

Faculdade de Engenharia da Universidade do Porto

Mestrado em Engenharia do Ambiente

EXTRACÇÃO ASSISTIDA POR MICROONDAS DE PESTICIDAS EM PRODUTOS AGRÍCOLAS

Paula Celeste Batista Paíga

Dissertação apresentada à Faculdade de Engenharia da
Universidade do Porto para a obtenção do grau de Mestre
em Engenharia do Ambiente.

Dissertação realizada sob a orientação de:

Orientadora: Professora Doutora Maria Arminda Costa Alves (FEUP)

Co-orientadora: Doutora Simone Barreira Morais (ISEP)

Janeiro de 2007

Porto

Os resultados apresentados nesta dissertação foram corpo das seguintes comunicações:

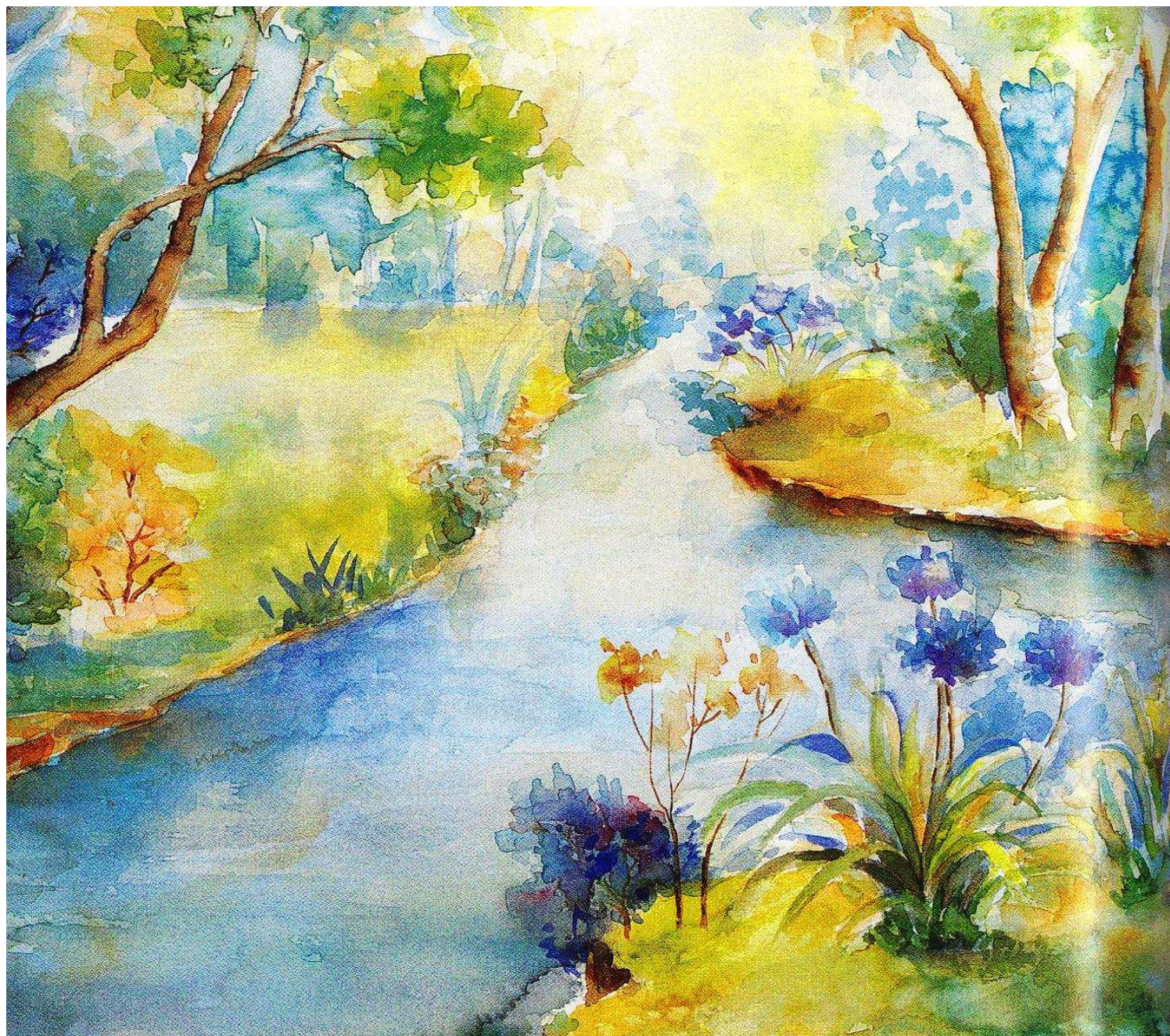
Comunicações em Paineis

P. Paíga, M. Correia, S. Morais, C. Delerue-Matos and A. Alves, "Analysis of carbamates in tomato samples by microwave-assisted extraction and liquid chromatography with diode array detection"; ALI-008, 11^{as} Jornadas de Análisis Instrumental, JAI, Barcelona, Espanha, 15 a 17 de Novembro, **2005**.

M. Teresa Oliva-Teles, **Paula Paíga**, Simone Morais, Manuela Correia, Paolo De Marco, Arminda Alves, Cristina Delerue-Matos; "LC-MS methodologies for carotenoids and pesticides quantification"; P-69, 4º Encontro REQUIMTE, Rede de Química e Tecnologia, Laboratório Associado Química Verde, Tecnologias e Processos Limpos, Fátima, Portugal, 31 de Março a 01 de Abril, **2006**.

P. Paíga, S. Morais, M. Correia, C. Delerue-Matos and A. Alves, "Microwave-assisted solvent extraction of carbamate and phenylurea pesticides from soils for analysis by LC-PAD"; P-18, 12th Symposium on Sample Handling for Environmental and Biological Analysis, Zaragoza, Espanha, 17 a 20 de Outubro de **2006**.

P. Paíga, S. Morais, **M. Correia**, C. Delerue-Matos and A. Alves, "Screening of pesticide residues in tomato samples using microwave-assisted extraction coupled to liquid chromatography with diode array detection"; P-59, 12th Symposium on Sample Handling for Environmental and Biological Analysis, Zaragoza, Espanha, 17 a 20 de Outubro de **2006**.





*Cada pessoa, durante a sua existência,
pode ter duas atitudes: Construir ou Plantar.*

*Os construtores podem demorar anos nas suas tarefas,
mas um dia terminam aquilo que andaram a fazer.*

Então param, e ficam limitados, pelas suas próprias paredes.

A vida perde o sentido quando a construção acaba.

Os que plantam sofrem com as tempestades, as estações, e raramente descansam.

Mas, ao contrário de um edifício, o jardim nunca pára de crescer.

*E, ao mesmo tempo que exige a atenção do jardineiro, também permite que,
para ele, a vida seja uma grande aventura.*

(Paulo Coelho "Brida")

Agradecimentos

O meu profundo obrigado a todo um conjunto de pessoas que contribuíram para que o presente trabalho fosse uma realidade.

Agradeço:

À Professora Doutora Arminda Alves pela pronta disponibilidade, ajuda, apoio, orientação e correcção da tese.

À Doutora Simone Morais por todos os ensinamentos, ajuda, correcção da tese, apoio, confiança, orientação e pelo esforço feito nos últimos meses de gravidez, e após o parto.

À Doutora Cristina Matos pelos 5 anos de amizade e aprendizagem ao seu lado, por me ter dado a oportunidade e cedido o laboratório do GRAQ para a realização de toda a parte experimental, pelo incentivo no início e na conclusão deste trabalho, pelo carinho, amizade e ternura sempre demonstrada.

Às Doutoras Teresa Oliva Teles e Manuela Correia pelos ensinamentos e ajuda nas horas complicadas à volta do HPLC.

À Eng.^a Rosa Ferreira da Direcção Geral de Protecção de Culturas pela disponibilidade e pelo fornecimento de um relatório com a descrição do método de referência na determinação de ditiocarbamatos em produtos hortícolas.

A todos os elementos do GRAQ pelo carinho sempre demonstrado.

Aos amigos e à minha família pelo amor, amizade, carinho e apoio.

Dedico:



Resumo

Portugal ao longo dos últimos anos conquistou um excelente lugar no mercado Mundial na produção de tomate. A cultura do tomate está sujeita ao ataque de um grande número de fungos, pragas e vírus sendo os pesticidas o principal meio para a sua prevenção e controlo. Devido aos riscos inerentes à utilização de pesticidas com repercussões na saúde humana e animal e na degradação do meio ambiente, há necessidade de uma monitorização dos níveis de resíduos de pesticidas nas diversas matrizes ambientais.

O presente trabalho teve por objectivo desenvolver e validar uma metodologia analítica, baseada na extracção assistida por microondas e na análise por cromatografia líquida com detecção por matriz de díodos, para a determinação simultânea de nove pesticidas em amostras de tomate e solos. Foram analisados seis carbamatos (butilato, carbaril, carbofurão, clorprofame, EPTC e etiofencarbe) e três ureias (linurão, metobromurão e monolinurão).

Estudou-se a estabilidade das soluções padrão ao longo do tempo, verificando-se a formação de produtos de degradação a partir do sétimo dia de preparação da solução.

As curvas de calibração foram realizadas com dez níveis de concentração para o butilato (30,0 a 500 µg/L) e com onze níveis de concentração para os restantes oito pesticidas (10,0 a 500 µg/L). Os limites de detecção e de quantificação obtidos para os nove pesticidas estudados variaram, respectivamente, entre 15,1 e 60,0 µg/L e de 50,43 a 200,0 µg/L. Relativamente ao processo de extracção por microondas, foram testados três solventes a três temperaturas (acetonitrilo, hexano-acetona (1:1, v/v) e diclorometano-metanol (9:1, v/v) a 60, 70 e 80 °C). O solvente e a temperatura óptima de extracção obtidos para a matriz do tomate foi o acetonitrilo a 60 °C e para a matriz de solos foi o acetonitrilo a 70 °C. As fortificações foram realizadas a três níveis de concentração: entre 10,0 e 200 µg/kg para a matriz de tomate e a 30,0, 50,0 e 70,0 µg/kg para os dois solos estudados com características físico-químicas diferentes. Na matriz de tomate, as percentagens de recuperação variaram em toda a gama de contaminação entre 54,62 e 103,2 % com um coeficientes de variação inferiores a 10 %. No entanto, obtiveram-se baixas percentagens de recuperação para o nível de contaminação superior para o pesticida carbofurão, (26,10 % para 200 µg/kg) e para o pesticida EPTC no nível de contaminação inferior (26,18 % para 30,0 µg/kg). Para os dois tipos de solos e nos três níveis de contaminação estudados, o método desenvolvido apresentou percentagens de recuperação compreendidas entre 69,58 e 120,3 % com coeficientes de variação abaixo dos 10 % para o

carbaril, carbofurão, clorprofame, etiofencarbe, linurão, metobromurão e monolinurão e percentagens de recuperação baixas para os pesticidas EPTC e butilato.

Após optimização e validação da metodologia, esta foi aplicada à análise de 28 amostras de tomate fruto em diferentes estados de maturação, originários de Portugal e Espanha, e a 6 amostras de tomate transformado. As amostras foram também analisadas por cromatografia líquida com detecção por espectrometria de massa. Os resultados obtidos estão abaixo dos limites estabelecidos pela legislação.

O estudo foi alargado à extracção de outro conjunto de pesticidas (butilato, carbaril, carbofurão, clorprofame, EPTC, etiofencarbe e linurão) de diversos vegetais, nomeadamente, da batata, cenoura, cebola e repolho. Foram testados três solventes de extracção a 60 °C (acetonitrilo e as misturas: hexano-acetona (1:1, v/v) e diclorometano-metanol (9:1, v/v)). Concluiu-se que o método desenvolvido permite a detecção de quatro dos pesticidas utilizados na contaminação nas matrizes de batata e repolho. Enquanto que na cenoura e na cebola não foram detectados nenhuns dos pesticidas em estudo devido aos picos característicos destas matrizes.

O critério aplicado para seleccionar a metodologia de extracção testada (extracção assistida por microondas) baseou-se numa perspectiva de protecção ambiental perseguindo os objectivos da implementação dos princípios da Química Verde, i.e. redução do consumo de solventes minimizando assim a produção de resíduos laboratoriais. Adicionalmente, a metodologia de extracção proposta tem como principais vantagens a redução drástica do tempo de preparação prévia das amostras, aumentando o ritmo das análises e consequentemente, reduzindo os custos. Finalmente, sistemas baseados em radiações microondas geram excelentes oportunidades para a automação. Espera-se que a metodologia analítica optimizada neste trabalho possa, no futuro, ser implementada em laboratórios e usada para controlo dos pesticidas estudados em amostras ambientais.

Abstract

Throughout the last years, Portugal conquered an excellent position in the world market of tomato production. Tomato cultures are attacked by a great number of fungi, plagues and virus, and pesticides are the principal way for their prevention and control. Due to the inherent risks of the application of pesticides that have repercussions in human and animal health, as well as, in environmental degradation, monitoring of pesticide residues in different environmental matrices is mandatory.

The principal aim of the present work was to develop and validate an analytical methodology, based on microwave assisted extraction and analysis by liquid chromatography with diode array detection, for the simultaneous determination of nine pesticides in tomato and soil samples. Six carbamates (butylate, carbaryl, carbofuran, chlorpropham, EPTC and ethiofencarb) and three ureas (linuron, metobromuron and monolinuron) were determined.

The stability of the standard solutions of pesticides was studied throughout the time and formation of degradation products was verified when seven days have elapsed from the day of solution preparation.

The calibration curves were performed using ten levels of concentration for butylate (30.0 to 500 µg/L) and eleven concentration values for the other eight pesticides (10.0 to 500 µg/L). For the nine studied pesticides, the detection and quantification limits ranged, respectively, from 15.1 and 60.0 µg/L and from 50.43 to 200.0 µg/L. Regarding the microwave assisted extraction procedure, three solvents were tested at three temperatures (acetonitrile, hexane-acetone (1:1, v/v) and dichloromethane-methanol (9:1, v/v) at 60, 70 and 80 °C). The selected optimum extraction conditions were: acetonitrile at 60 °C for tomato matrices and acetonitrile at 70 °C for soil samples. Spiking was carried out at three levels of concentration, namely, 10.0 to 200 µg/kg for tomato matrix and 30.0, 50.0 and 70.0 µg/kg for the two studied soils with different physical and chemical characteristics. For tomato samples, the attained recoveries varied from 54.62 to 103.2 % with variation coefficient less than 10 %. However, low recoveries were obtained for carbofuran, (26.10 % for the spiking level 200 µg/kg) and EPTC (26.18 %, for the concentration level 30.0 µg/kg). For the two type of soils at the three spiking levels, the developed methodology presented recoveries that ranged between 69.58 and 120.3 % with variation coefficients below than 10 % for carbaryl, carbofuran, chlorpropham, ethiofencarb, linuron, metobromuron and monolinuron and low recoveries for the pesticides EPTC and butylate.

After optimization and validation of the methodology, twenty eight tomato samples in different states of maturation, originating from Portugal and Spain, and six samples of transformed tomato were analysed. The samples turned out to be positive by liquid chromatography with diode array detection were confirmed using the mass spectrometry detector. The attained results were below the limits established in the legislation.

The study undertaken was also applied to other vegetables, namely, potato, onion, carrot and cabbage to extract restricted pesticides (butylate, carbaryl, carbofuran, chlorpropham, EPTC, ethiofencarb and linuron). Three extraction solvents were tested at 60°C (acetonitrile and the mixtures: hexane-acetone (1:1, v/v) and dichloromethane-methanol (9:1, v/v)). The developed methodology allows the detection of four pesticides only in potato and cabbage matrices. Unfortunately, in carrot and onion samples, the pesticides can not be quantified due to overlapping with the characteristic peaks of the matrices.

The criteria applied to select the extraction methodology to be tested was based in an environmental protection perspective pursuing the implementation of the principles of Green Chemistry, i.e. reducing solvent consumption thereby minimising the disposal of waste solvents. Additionally, the proposed microwave-assisted extraction methodology has the main advantages of drastically reducing sample handling and increasing sample throughput, thereby minimising the costs of the analysis. Furthermore, microwave systems provide an excellent opportunity for automation. Finally, it is expected that the optimized analytical methodology can, in future, be implemented in laboratories and used for quality analytical control purposes of the studied pesticides in environmental samples.

Índice Geral

| | Página |
|----------------------------------|--------|
| Resumo | i |
| Abstract | iii |
| Índice Geral | v |
| Índice de tabelas | viii |
| Índice de figuras | xi |
| Lista de abreviaturas e símbolos | xv |

| | Página |
|---|--------|
| 1. Introdução | 1 |
| 1.1. Caracterização genérica dos produtos agrícolas e dos solos portugueses, objectos de estudo | 2 |
| 1.1.1. O solo português | 2 |
| 1.1.2. A cebola, a cenoura, o repolho e a batata | 4 |
| 1.1.3. O tomate | 9 |
| 1.1.3.1. <i>As principais doenças, pragas, vírus do tomate e pesticidas usados no combate</i> | 14 |
| 1.1.3.1. a) Doenças | 14 |
| 1.1.3.1. a ₁) Podridão Cinzenta | 14 |
| 1.1.3.1. a ₂) Míldio do tomateiro | 16 |
| 1.1.3.1. a ₃) Alternaria do tomateiro | 18 |
| 1.1.3.1. a ₄) Oídio do tomateiro | 19 |
| 1.1.3.1. b) Pragas | 21 |
| 1.1.3.1. b ₁) Lagarta do tomateiro | 21 |
| 1.1.3.1. b ₂) Mosca do tomateiro | 23 |
| 1.1.3.1. c) Vírus | 24 |
| 1.2. Caracterização dos pesticidas usados na agricultura | 25 |
| 1.2.1. Introdução | 26 |
| 1.2.2. Modos de classificação e principais famílias químicas de pesticidas | 28 |
| 1.2.3. Consumo de pesticidas em Portugal | 35 |
| 1.2.4. Impacto ambiental derivado da aplicação de pesticidas na agricultura | 38 |
| 1.2.5. Características físico-químicas dos pesticidas englobados neste estudo | 40 |
| 1.2.5.1. <i>Butilato</i> | 44 |
| 1.2.5.2. <i>Carbaril</i> | 44 |
| 1.2.5.3. <i>Carbofurão</i> | 45 |
| 1.2.5.4. <i>Clorprofame</i> | 46 |

| | |
|--|-----|
| 1.2.5.5. <i>EPTC</i> | 47 |
| 1.2.5.6. <i>Etiofencarbe</i> | 48 |
| 1.2.5.7. <i>Linurão</i> | 48 |
| 1.2.5.8. <i>Metobromurão</i> | 49 |
| 1.2.5.9. <i>Monolinurão</i> | 49 |
| 1.2.6. Legislação e LMR aplicados aos pesticidas em estudo | 50 |
| 1.3. Métodos de análise de pesticidas em produtos agrícolas | 55 |
| 1.3.1. Processos de amostragem e de conservação da amostra | 55 |
| 1.3.2. Processos de extracção | 57 |
| 1.3.3. Métodos de separação, identificação e quantificação | 61 |
| 1.4. Extracção assistida por microondas | 64 |
| 1.4.1. Considerações gerais | 64 |
| 1.4.2. O processo de aquecimento por microondas | 65 |
| 1.4.3. Constituição do equipamento para extracção assistida por microondas | 66 |
| 1.4.4. Parâmetros que condicionam o processo de extracção | 68 |
| 1.5. Caso particular da análise de pesticidas por MAE | 77 |
| 2. Materiais e Métodos | 79 |
| 2.1. Reagentes | 79 |
| 2.2. Amostragem e conservação das amostras | 81 |
| 2.3. Equipamento | 84 |
| 2.4. Procedimento | 85 |
| 2.4.1. Preparação da amostra | 85 |
| 2.4.2. Caracterização das matrizes | 86 |
| 2.4.2.1. <i>Determinação do pH</i> | 86 |
| 2.4.2.2. <i>Determinação da humidade</i> | 87 |
| 2.4.2.3. <i>Determinação da matéria orgânica</i> | 88 |
| 2.4.2.4. <i>Determinação da densidade a granel</i> | 89 |
| 2.4.3. Pesagem da matriz e etapa de extracção | 89 |
| 2.4.4. Filtração dos extractos obtidos após extracção por MAE | 92 |
| 2.4.5. Evaporação do solvente de extracção | 93 |
| 2.4.6. Ensaio de recuperação | 93 |
| 2.4.7. Análise cromatográfica | 94 |
| 2.4.8. Validação da metodologia analítica | 97 |
| 3. Resultados e Discussão | 101 |
| 3.1. Caracterização das matrizes | 102 |

| | | |
|---|--|-----|
| 3.2. Desenvolvimento e validação da metodologia analítica para a determinação de pesticidas da família dos carbamatos e ureias por HPLC-DAD | 105 | |
| 3.3. Estudo da estabilidade da solução padrão misto dos pesticidas | 111 | |
| 3.4. Optimização do processo de extracção assistida por microondas (MAE) | 117 | |
| 3.4.1. Considerações | 116 | |
| 3.4.2. Optimização das condições operatórias de extracção nas matrizes de solo | 120 | |
| 3.4.3. Quantidade de sulfato de sódio a adicionar às matrizes vegetais (batata, cenoura, cebola e repolho) e do fruto tomate | 134 | |
| 3.4.4. Optimização das condições de extracção na matriz de tomate | 135 | |
| 3.4.5. Optimização das condições de extracção nas matrizes de vegetais (batata, cebola, cenoura e repolho) | 143 | |
| 3.5. Desenvolvimento das condições cromatográficas para a detecção dos pesticidas em estudo por LC-MS | 148 | |
| 3.6. Confirmação de interferentes na matriz do tomate por LC-MS | 153 | |
| 3.7. Análise de amostras reais de tomate | 157 | |
| 4. Conclusões | 169 | |
| 5. Bibliografia | 173 | |
| Anexo I | Formulações e substâncias activas aplicadas no combate das infestações na cultura do tomateiro | 191 |
| Anexo II | Quantitativos de: fungicidas, herbicidas, insecticidas, acaricidas, reguladores de crescimento de plantas e outros produtos fitofarmacêuticos vendidos em Portugal em 2004 | 196 |
| Anexo III | Valores de LMR e as respectivas legislações aplicadas às substâncias não incluídas na LPC | 204 |
| Anexo IV | Técnicas de extracção utilizadas na extracção de pesticidas da família dos carbamatos e das ureias nas matrizes de vegetais, frutos e solos | 207 |
| Anexo V | Métodos de análise de resíduos de pesticidas da família dos carbamatos e das ureias em produtos agrícolas e solos | 216 |
| Anexo VI | Fluxogramas das várias etapas experimentais | 225 |
| Anexo VII | Variedades existentes de tomate | 229 |
| Anexo VIII | Caracterização das matrizes estudadas | 234 |
| Anexo IX | Tempo de retenção, tempo de retenção médio, áreas, áreas médias, desvio padrão e % CV para todas as injeções efectuadas nos onze níveis de concentrações utilizadas na construção da curva de calibração | 243 |
| Anexo X | Validação estatística da curva de calibração | 249 |
| Anexo XI | Resultados obtidos de percentagem de recuperação em cada ensaio na optimização das condições de extracção (solvente e temperatura de extracção) para os solos do tipo I e do tipo II | 254 |
| Anexo XII | Degradação e estabilidade dos pesticidas em estudo | 264 |
| Anexo XIII | Resultados obtidos da percentagem de recuperação para cada solvente de extracção na gama de temperaturas estudada na matriz do tomate | 265 |
| Anexo XIV | Resultados obtidos em todos os ensaios realizados da percentagem de recuperação para cada solvente de extracção na gama de temperaturas estudada na matriz dos vegetais | 269 |

Índice de Tabelas

| | Página |
|--|--------|
| Tab. 1: Características dos solos incluídos na superfície agrícola de Portugal Continental (extraído de ^[11]). | 4 |
| Tab. 2: Quantidades de produtos fitofarmacêuticos vendidos em 2004 por tipo de função da substância activa. Dados publicados no relatório de vendas de produtos fitofarmacêuticos em Portugal de 2004 pela Direcção Geral de Protecção de Culturas (extraído de ^[115]). | 35 |
| Tab. 3: Resumo das características mais relevantes que diferenciam os pesticidas das duas famílias em estudo ^[98] . | 41 |
| Tab. 4: Propriedades físico-químicas dos pesticidas em estudo (extraído de ^[98]). | 42-43 |
| Tab. 5: Legislação nacional para substâncias activas com usos não autorizados em Portugal (extraído de ^[121]). | 52 |
| Tab. 6: Legislação para substâncias activas com usos em Portugal (extraído de ^[121]). | 52 |
| Tab. 7: Substâncias activas não incluídas na Lista Positiva Comunitária (LPC-Anexo 1 da Directiva 91/414/CEE) (extraído de ^[144]). | 53 |
| Tab. 8: Limites máximos de resíduos em produtos agrícolas para os pesticidas em estudo e legislação vigente, referente ao relatório de 28 de Fevereiro de 2005, publicada pela Direcção Geral de Protecção de Culturas (extraído de ^[121]). | 54 |
| Tab. 9: Produtos de origem vegetal: descrição das amostras primárias e dimensão mínima das amostras e da parte do produto a que se aplicam os limites máximos de resíduo (extraído de ^[146]). | 56 |
| Tab. 10: Explicação resumida das metodologias de extracção mais usuais. | 59 |
| Tab. 11: Comparação entre técnicas de extracção tradicionais e as técnicas de extracção mais recentes ^[176, 196] . | 60 |
| Tab. 12: Procedimento padrão de EPA para extracção assistida por microondas (MAE) de amostras ambientais (Norma 3546) (extraído de ^[246]). | 69 |
| Tab. 13: Métodos de extracção, aplicados às diferentes matrizes em estudo na detecção dos nove pesticidas. | 71-76 |
| Tab. 14: Identificação das amostras de tomate (fruto e transformado) analisadas. | 82-83 |
| Tab. 15: Parâmetros óptimos para a extracção assistida por microondas (MAE) dos pesticidas em estudo nas matrizes de vegetais, fruto e solos. | 91 |

| | | |
|-----------------|--|-----|
| Tab. 16: | Cor dos extractos obtidos após o processo de extracção por MAE das diferentes matrizes. | 92 |
| Tab. 17: | Comprimentos de onda, λ molecular, λ de fragmentação e cones característicos para os nove pesticidas estudados. | 96 |
| Tab. 18: | Parâmetros experimentais seleccionados para a detecção por LC-MS. | 97 |
| Tab. 19: | Composição das soluções padrão utilizadas na construção das curvas de calibração por HPLC-DAD. | 98 |
| Tab. 20: | Características das matrizes estudadas. | 103 |
| Tab. 21: | Tempos de retenção (t_r), comprimentos de onda (λ), curvas de calibração, coeficiente de regressão, gama de linearidade, LOD e LOQ para os nove pesticidas estudados, por HPLC-DAD. | 107 |
| Tab. 22: | Condições de linearidade para análise cromatográfica dos padrões por injeção directa. | 110 |
| Tab. 23: | Áreas obtidas nos vários dias para os pesticidas: carbofurão, carbaril, etiofencarbe, monolinurão, metobromurão, linurão, clorprofame, EPTC e butilato; e as áreas obtidas nos produtos de degradação (PD) formados. | 113 |
| Tab. 24: | Constante dieléctrica (ϵ') para diferentes solventes e mistura de solventes a uma frequência de 3 GHz à temperatura de 25 °C ^[107, 266] . | 118 |
| Tab. 25: | Solventes de extracção e gama de temperatura de extracção utilizadas por diferentes autores na extracção de pesticidas da família dos carbamatos e ureias. | 119 |
| Tab. 26: | Percentagem de recuperação (% Rec), desvio padrão (s), coeficiente de variação (% CV) e número de ensaios efectuados (n) com os solventes de extracção: acetonitrilo, hexano-acetona (1:1, v/v) e diclorometano-metanol (9:1, v/v), nas temperaturas de 60, 70 e 80 °C no solo do tipo I, para uma contaminação de 50,00 $\mu\text{g}_{\text{pesticida}}/\text{kg}_{\text{solo}}$. | 121 |
| Tab. 27: | Percentagem de recuperação (% Rec), desvio padrão (s), coeficiente de variação (% CV) e número de ensaios efectuados (n) com os solventes de extracção: acetonitrilo, hexano-acetona (1:1, v/v) e diclorometano-metanol (9:1, v/v), nas temperaturas de 60, 70 e 80 °C no solo do tipo II, para uma contaminação de 50,00 $\mu\text{g}_{\text{pesticida}}/\text{kg}_{\text{solo}}$. | 123 |
| Tab. 28: | Percentagem de recuperação (% Rec), desvio padrão (s), coeficiente de variação (% CV) e número de ensaios efectuados (n) para a extracção assistida por microondas (MAE) a diferentes níveis de contaminações na matriz do solo do tipo I e do tipo II, utilizando como solvente e a temperatura de extracção o acetonitrilo a 70 °C. | 132 |
| Tab. 29: | Limite máximo de resíduo (LMR) de cada pesticida estudado, aplicação da substância activa e contaminação (nível I) efectuada na matriz do tomate para cada pesticida. | 135 |

| | | |
|-----------------|--|---------|
| Tab. 30: | Percentagem de recuperação (% Rec), desvio padrão (s) coeficiente de variação (% CV) e número de ensaios efectuados (n) com os solventes de extracção: acetonitrilo, hexano-acetona (1:1, v/v) e diclorometano-metanol (9:1, v/v), nas temperaturas de 60, 70 e 80 °C na matriz do tomate para o nível de contaminação I. | 136 |
| Tab. 31: | Limite máximo de resíduo (LMR), aplicação da substância activa e contaminação efectuada na matriz do tomate para cada pesticida. | 141 |
| Tab. 32: | Percentagem de recuperação (% Rec), desvio padrão (s), coeficiente de variação (% CV) e número de ensaios efectuados (n) para o acetonitrilo a 60 °C nos níveis de contaminação II e III na matriz do tomate. | 141 |
| Tab. 33: | Percentagem de recuperação (% Rec) para cada nível de contaminação para todos os pesticidas em estudo na matriz do tomate. | 142 |
| Tab. 34: | Limite máximo de resíduo (LMR), aplicação e nível de contaminação efectuado nas matrizes dos vegetais para cada pesticida. | 143 |
| Tab. 35: | Percentagem de recuperação (% Rec), desvio padrão (s), coeficiente de variação (% CV) e número de ensaios efectuados (n) utilizando: o acetonitrilo, as misturas: hexano-acetona (1:1, v/v) e diclorometano-metanol (9:1, v/v) para extrair a 60 °C os pesticidas em estudo da <u>batata</u> com um nível de contaminação para carbofurão, etiofencarbe, linurão e clorprofame de 60,0 µg/kg, para o carbaril de 48,0 µg/kg e para os pesticidas EPTC e butilato de 159 µg/kg. | 144 |
| Tab. 36: | Percentagem de recuperação (% Rec), desvio padrão (s), coeficiente de variação (% CV) e número de ensaios efectuados (n) utilizando: o acetonitrilo, as misturas hexano-acetona (1:1, v/v) e diclorometano-metanol (9:1, v/v) para extrair a 60 °C os pesticidas em estudo do <u>repolho</u> com um nível de contaminação para os pesticidas carbofurão, etiofencarbe, linurão e clorprofame de 60,0 µg/kg, para o pesticida carbaril de 48,0 µg/kg e para os pesticidas EPTC e butilato de 159 µg/kg. | 145 |
| Tab. 37: | Comprimento de onda (λ), tempo de retenção (tr), razão massa/carga (m/z) obtidos na análise de amostras reais do tomate fruto com detecção por DAD e MS. | 158-160 |
| Tab. 38: | Comprimento de onda (λ), tempo de retenção (tr), razão massa/carga (m/z) obtidos na análise de amostras reais de tomate transformado com detecção por DAD e MS. | 166 |

Índice de Figuras

| | Página |
|--|--------|
| Fig. 1: Ocupação do solo em Portugal continental em 2000; a) distribuição do solo Português; b) localização geográfica das utilizações do solo (extraído de ^[8]). | 3 |
| Fig. 2: Cebola (extraído de ^[13]). | 5 |
| Fig. 3: a) Cenouras com diferentes tonalidades e b) cenoura com a tonalidade laranja (extraído de ^[19]). | 7 |
| Fig. 4: Repolho (extraído de ^[17]). | 8 |
| Fig. 5: Batata (extraído de ^[7]). | 9 |
| Fig. 6: Tomate (extraído de ^[7]). | 10 |
| Fig. 7: Produção de tomate em Portugal, desde 1961 até 2005, segundo os dados estatísticos da Organização das Nações Unidas para a Agricultura e a Alimentação (FAO) ^[37] . | 12 |
| Fig. 8: Países produtores e quantidade de tomate produzida (toneladas) em 2005, segundo os dados estatísticos da Organização das Nações Unidas para a Agricultura e a Alimentação (FAO) ^[37] . | 13 |
| Fig. 9: Visualização por microscópio do fungo <i>Botrytis cinerea</i> (fotografia ampliada 500x), a forma do fungo assemelha-se a um cacho de uvas (extraído de ^[49]). | 14 |
| Fig. 10: Danificação dos diferentes órgãos do tomateiro pelo fungo <i>Botrytis cinerea</i> : a) no caule, b) nas folhas, c) na flor e d) nos frutos (maduros e verdes) (extraído de ^[38, 50]). | 15 |
| Fig. 11: Visualização por microscópio do fungo <i>Phytophthora infestans</i> (Mont.) du Bary (fotografia ampliada 500x) (extraído de ^[48]). | 16 |
| Fig. 12: Danificação dos diferentes órgãos do tomateiro pelo fungo <i>Phytophthora infestans</i> (Mont.) du Bary: a) nas folhas, b) no caule e c) nos frutos (extraído de ^[48, 50]). | 17 |
| Fig. 13: Visualização por microscópio do fungo <i>Alternaria dauci</i> (fotografia ampliada 500x) (extraído de ^[51]). | 18 |
| Fig. 14: Danificação dos diferentes órgãos do tomateiro pelo fungo <i>Alternaria dauci</i> : a) nas folhas e b) no fruto (extraído de ^[38, 47, 50]). | 19 |
| Fig. 15: Visualização por microscópio do fungo <i>Leveillula taurica</i> (fotografia ampliada 500x) (extraído de ^[50]). | 20 |
| Fig. 16: Danificação observada nas folhas pelo fungo <i>Leveillula taurica</i> : a) a doença manifesta-se com uma cor amarelada, b) as folhas ficam cobertas de esporulação esbranquiçada e c) as folhas mais velhas secas (extraído de ^[38, 50]). | 20 |
| Fig. 17: Diferentes estágios da vida de <i>Helicoverpa armigera</i> , desde a ovulação até à forma adulta (extraído de ^[53]). | 21-22 |
| Fig. 18: Ciclo de vida da mosca branca (extraído de ^[55, 56]). | 23 |

| | | |
|-----------------|---|-----|
| Fig. 19: | Cultura de tomate afectada pelo vírus do bronzeamento do tomateiro (TSWV) e o vírus do frisado amarelo do tomateiro (TYLCV) (extraída de ^[47]). | 24 |
| Fig. 20: | Uso do pesticida DDT nas pessoas para prevenir a epidemia da Malária (extraído de ^[69]). | 27 |
| Fig. 21: | Estrutura química de pesticidas da família dos carbamatos ^[98] . | 32 |
| Fig. 22: | Estrutura química de pesticidas da família das ureias ^[98] . | 34 |
| Fig. 23: | Repartição percentual por função dos produtos fitofarmacêuticos vendidos em 2004 (extraído de ^[115]). | 36 |
| Fig. 24: | Eco-eficiência do sector agrícola de 1990 a 2003 em Portugal (extraído de ^[2]). | 36 |
| Fig. 25: | Venda dos principais produtos fitofarmacêuticos em Portugal Continental desde 1991 (extraído de ^[2]). | 37 |
| Fig. 26: | Consumo dos principais pesticidas na UE por área agrícola, em 2001 (extraído de ^[2]). | 37 |
| Fig. 27: | Transferência dos pesticidas no meio ambiente (extraído de ^[62, 64]). | 40 |
| Fig. 28: | Esquema representativo dos componentes de um instrumento de cromatografia. | 62 |
| Fig. 29: | Localização da região de microondas no espectro electromagnético (extraído de ^[245]). | 65 |
| Fig. 30: | Dispositivo do conjunto dos vasos dentro da cavidade do microondas (imagem 1 e 2 foram extraídas do manual do equipamento do microondas). | 67 |
| Fig. 31: | Vaso controlo equipado com o sensor de temperatura e sensor de pressão (extraído do manual do equipamento do microondas). | 68 |
| Fig. 32: | Trituração do tomate para posterior extracção no microondas: a) picadora e o tomate a analisar, b) tomate na picadora antes da trituração e c) tomate triturado. | 86 |
| Fig. 33: | Amostras de tomate fruto triturado na estufa a) antes e b) após as 12 horas a 55-60 °C para a determinação da humidade. | 87 |
| Fig. 34: | Etapas do processo de extracção assistida por microondas (MAE). | 90 |
| Fig. 35: | Programa de extracção aplicado: a) vegetais e fruto e b) solos. | 91 |
| Fig. 36: | Etapa de filtração do extracto após extracção no microondas: a) vaso com o extracto obtido após extracção no microondas, b) antes da filtração do extracto, c) após filtração do extracto, d) filtro após filtração do extracto e e) tubo de evaporação com o extracto filtrado. | 92 |
| Fig. 37: | Etapa da evaporação do solvente de extracção e pré-concentração dos pesticidas; a) tubo de evaporação com o extracto, b) rotavapor, c) tubo de evaporação com o resíduo do extracto e d) filtração da redissolução com acetonitrilo antes da injeção no LC. | 93 |
| Fig. 38: | Equipamento de cromatografia líquida utilizado e detectores DAD e MS. | 95 |
| Fig. 39: | Programa de eluição utilizado na separação de nove pesticidas por HPLC-DAD e MS. | 96 |
| Fig. 40: | Cromatograma obtido por HPLC-DAD para uma solução padrão misto contendo os compostos em estudo com uma concentração de 500 µg/L a 210,0 nm. | 106 |

| | | |
|-----------------|--|-----|
| Fig. 41: | a) Sobreposição dos cromatogramas correspondentes à curva de calibração do carbofurão a 199,2 nm; b) curva de calibração do carbofurão na gama de concentrações de 10,0 a 500 µg/L. | 108 |
| Fig. 42: | a) Sobreposição dos cromatogramas correspondentes à curva de calibração do carbaril a 221,4 nm; b) curva de calibração do carbaril na gama de concentrações de 10,0 a 500 µg/L. | 108 |
| Fig. 43: | a) Sobreposição dos cromatogramas correspondentes à curva de calibração do etiofencarbe a 192,2 nm; b) curva de calibração do etiofencarbe na gama de concentrações de 10,0 a 500 µg/L. | 108 |
| Fig. 44: | a) Sobreposição dos cromatogramas correspondentes à curva de calibração monolinurão, metobromurão, linurão e clorprofame a 245 nm; b) curva de calibração: 1-monolinurão; 2-metobromurão; 3-linurão; 4-clorprofame; na gama de concentrações de 10,0 a 500 µg/L. | 109 |
| Fig. 45: | a) Sobreposição dos cromatogramas correspondentes à curva de calibração do EPTC e do butilato a 210,0 nm; b) curva de calibração: 1-EPTC na gama de concentrações de 10,0 a 500 µg/L; 2-butilato na gama de concentrações de 30,0 a 500 µg/L. | 109 |
| Fig. 46: | Estudo da degradação dos pesticidas ao longo de um ano a) gráfico traçado de 0 a 365 dias e b) gráfico traçado de 0 a 30 dias. | 112 |
| Fig. 47: | Sobreposição dos cromatogramas obtido por HPLC-DAD para o pesticida carbofurão ($\lambda=199,2$ nm) em: ■ 0 dias, ■ 7 dias, ■ 30 dias e ■ 1 ano. | 114 |
| Fig. 48: | Sobreposição dos cromatogramas obtido por HPLC-DAD para o pesticida carbaril ($\lambda=221,4$ nm) em: ■ 0 dias, ■ 7 dias, ■ 30 dias e ■ 1 ano. | 114 |
| Fig. 49: | Sobreposição dos cromatogramas obtido por HPLC-DAD para o pesticida etiofencarbe ($\lambda=192,2$ nm) em: ■ 0 dias, ■ 7 dias, ■ 30 dias e ■ 1 ano. | 115 |
| Fig. 50: | Sobreposição dos cromatogramas obtido por HPLC-DAD para os pesticidas monolinurão, metobromurão, linurão e clorprofame ($\lambda=245,0$ nm) nos tempos de: ■ 0 dias, ■ 7 dias, ■ 30 dias e ■ 1 ano. | 115 |
| Fig. 51: | Sobreposição dos cromatogramas obtido por HPLC-DAD para os pesticidas EPTC e butilato ($\lambda=210,0$ nm) nos tempos de: ■ 0 dias, ■ 7 dias, ■ 30 dias e ■ 1 ano. | 116 |
| Fig. 52: | Sobreposição dos cromatogramas obtido por HPLC-DAD a 210,0 nm para os produtos de degradação PD ₁ , PD ₂ , PD ₃ , PD ₄ em: ■ 0 dias, ■ 7 dias, ■ 30 dias e ■ 1 ano. | 116 |
| Fig. 53: | Sobreposição dos cromatogramas a 199,2 nm (carbofurão) de: a) solo do tipo I e b) solo do tipo II. | 126 |
| Fig. 54: | Sobreposição dos cromatogramas a 221,4 nm (carbaril) de: a) solo do tipo I e b) solo do tipo II. | 127 |
| Fig. 55: | Sobreposição dos cromatogramas a 192,2 nm (etiofencarbe) de: a) solo do tipo I e b) solo do tipo II. | 128 |

| | | |
|-----------------|--|---------|
| Fig. 56: | Sobreposição dos cromatogramas a 245,0 nm (<u>monolinurão</u> , <u>metobromurão</u> , <u>linurão</u> e <u>clorprofame</u>) de: a) solo do tipo I e b) solo do tipo II. | 129 |
| Fig. 57: | Sobreposição dos cromatogramas a 210,0 nm (<u>EPTC</u> e <u>butilato</u>) de: a) solo do tipo I e b) solo do tipo II. | 130 |
| Fig. 58: | Extracto de tomate após a extracção assistida no microondas (MAE): a) sem adição de sulfato de sódio anidro e b) com adição sulfato de sódio anidro. | 134 |
| Fig. 59: | Sobreposição dos cromatogramas a 199,2 nm (carbofurão) na matriz do tomate. | 138 |
| Fig. 60: | Sobreposição dos cromatogramas a 221,4 nm (carbaril) na matriz do tomate. | 138 |
| Fig. 61: | Sobreposição dos cromatogramas a 192,2 nm (etiofencarbe) na matriz do tomate. | 139 |
| Fig. 62: | Sobreposição dos cromatogramas a 245,0 nm (monolinurão, metobromurão, linurão e clorprofame) na matriz do tomate. | 139 |
| Fig. 63: | Sobreposição dos cromatogramas a 210,0 nm (EPTC e butilato) na matriz do tomate. | 140 |
| Fig. 64: | Sobreposição dos cromatogramas a 210,0 nm de: a) cenoura e b) cebola. | 146 |
| Fig. 65: | Primeira etapa do processo de extracção descrito por Ni Y. <i>et al</i> , da matriz <u>repolho</u> contaminado com pesticidas. | 147 |
| Fig. 66: | Segunda etapa do processo de extracção descrito por Ni Y. <i>et al</i> , da matriz <u>repolho</u> contaminado com pesticidas. | 148 |
| Fig. 67: | Espectros de massa obtidos por injeção directa de cada solução padrão dos pesticidas: carbofurão, carbaril, etiofencarbe, monolinurão, metobromurão, linurão, clorprofame, EPTC e butilato com a concentração em cada pesticida de 500 µg/L. | 150-151 |
| Fig. 68: | Cromatograma obtido da amostra TCoração de Boi-1-3-V.N.Gaia por HPLC-DAD nos comprimentos de onda: a) 210,0 nm e b) 245,0 nm. | 154 |
| Fig. 69: | Espectros de UV para os picos que aparecem no branco da amostra TCoração de Boi-1-3-V.N.Gaia para: A) pesticida EPTC e o pico n.º 1 ao tr de 21,3 minutos; B) butilato e o pico n.º 2 ao tr de 23,6 minutos e C) clorprofame e o pico n.º 3 ao tr de 19,4 minutos. | 155 |
| Fig. 70: | a) Sobreposição dos cromatogramas da solução padrão do pesticida EPTC e da amostra TCoração de Boi-4-2-Coimbra na razão m/z 128 por LC-MS; b) espectro de massa na razão m/z; b₁) pesticida EPTC (300 µg/L) e b₂) amostra TCoração de Boi-4-2-Coimbra. | 163 |
| Fig. 71: | a) Sobreposição dos cromatogramas da solução padrão do pesticida EPTC e da amostra T-Chucha-4-2-Coimbra na razão m/z 128 por LC-MS; b) espectro de massa na razão m/z; b₁) amostra T-Chucha-4-2-Coimbra e b₂) pesticida EPTC (300 µg/L). | 165 |

Lista de abreviaturas e símbolos

| | |
|------------------|--|
| a.c. | Antes de Cristo |
| AESA | Autoridade Europeia para a Segurança Alimentar |
| AIT | Associação dos Industriais de Tomate |
| ANIPLA | Associação Nacional da Indústria para a Protecção das Plantas |
| AOAC | <i>Association of Official Analytical Chemists</i> |
| ASE | Extracção acelerada por solvente |
| ATP | Adenosina tri-fosfato |
| AVC | Acidente vascular cerebral |
| B | Batata |
| °C | Graus Celsius |
| Cb | Cebola |
| Ce | Cenoura |
| CE | Comissão europeia |
| CL | Concentração letal (toxicidade por via inalatória) |
| c.n.e. | Caracterização não efectuada |
| CV | Coefficiente de variação expresso em percentagem |
| 2,4-D | Ácido 2,4-Diclorofenoxiacético |
| DAD | Detector de matriz de díodos |
| DDT | Diclorodifeniltricloroetano |
| DGPC | Direcção Geral de Protecção das Culturas |
| DL | Dose letal (toxicidade aguda por via oral e dérmica) |
| ELISA | Ensaio por enzimas imuno-adsorvidas (<i>Enzyme-linked immunosorbent assay</i>) |
| EPA | Agência de Protecção Ambiental |
| EUA | Estados Unidos da América |
| EUROSTAT | Gabinete de Estatística da União Europeia |
| f | Coefficiente de Van Bemmelen |
| F | Fluorescência |
| FAO | Organização das Nações Unidas para a Agricultura e a Alimentação (<i>Food and agriculture organization of the United Nation</i>) |
| Fig. | Figura |
| FMASE | Extracção assistida em vasos abertos à temperatura atmosférica ou a baixas pressões |
| %f _{co} | Teor em carbono orgânico |
| g | Gramas |
| GC | Cromatografia gasosa |
| GPC | Cromatografia de permeação de gel |
| H | Humidade |
| ha | Hectares |
| hr | Hora |

| | |
|-----------------------------|---|
| INR | Instituto Nacional de Resíduos |
| $IC_{declive}$ | Intervalos de confiança do declive |
| $IC_{ordenada\ na\ origem}$ | Intervalos de confiança da ordenada na origem |
| L | Litro |
| LC | Cromatografia líquida |
| LLE | Extracção líquido-líquido |
| LMR | Limite Máximo de Resíduo |
| LOD | Limite de detecção |
| LOQ | Limite de quantificação |
| LPC | Lista positiva comunitária |
| M | Molaridade |
| m_1 | Massa do cadinho |
| m_2 | Massa do cadinho e a amostra |
| m_3 | Massa do cadinho e a amostra após o aquecimento na estufa a 110 °C |
| MAE | Extracção assistida por microondas |
| mg | Miligramas |
| min | Minutos |
| mL | Mililitro |
| m_s | Massa de solo |
| MS | Espectrometria de massa |
| MSPD | Dispersão da matriz em fases sólidas (<i>Matrix solid-phase dispersion</i>) |
| m/z | Razão massa/carga |
| n | Número de injeções sucessivas |
| NADPH | Nicotinamida adenina dinucleótido fosfato |
| n.d. | Não detectado |
| n_i | Número de pontos utilizados na curva de calibração |
| OMS | Organização Mundial da Saúde |
| Pág. | Página |
| PAH's | Hidrocarbonetos poliaromáticos |
| ppm | Partes por milhão |
| ppb | Partes por bilião |
| PD | Produto de degradação |
| PE | Parlamento Europeu |
| PLE | Extracção com líquidos pressurizados |
| REA | Relatório de Estado do Ambiente |
| Rec. | Recuperação |
| R | Repolho |
| s | Desvio padrão |
| $S_{y/x}$ | Desvio padrão da regressão |
| S_a | Desvio padrão da ordenada na origem |
| s.a. | Substância activa |

| | |
|--|---|
| S_b | Desvio padrão do declive |
| SFA | Sulfato de ferro e amónio |
| SFE | Extracção com fluido supercrítico |
| SOX | Soxhlet |
| SPE | Extracção em fase sólida |
| SPME | Micro extracção em fase sólida |
| T | Tomate |
| Tab. | Tabela |
| TSWV | Vírus do bronzeamento do tomateiro |
| TYLCV | Vírus do frisado amarelo do tomateiro |
| % TNMO | Teor natural de matéria orgânica |
| tr | Tempo de retenção |
| UE | União europeia |
| USE | Extracção por ultra-sons |
| x | Concentração em $\mu\text{g/L}$ |
| y | Área do pico do pesticida |
| y_i | Resposta do detector para um dado nível de concentração |
| V_a | Volume de SFA gasto para titular o ensaio em branco (mL) |
| V_b | Volume de SFA gasto para titular a amostra (ml) |
| V.N.Gaia | Vila Nova de Gaia |
| V_p | Volume da proveta |
| W | <i>Watts</i> |
| ϵ' | Constante dieléctrica |
| ϵ'' | Factor da perda dieléctrica |
| ρ | Densidade a granel |
| \bar{x} | Média das determinações |
| \hat{y} | Valor correspondente estimado a partir da curva de calibração |
| $\left(\frac{\mu\text{g}}{\text{Kg}}\right)_a$ | Massa de pesticida por massa de matriz obtida após extracção no microondas e detectada por LC |
| $\left(\frac{\mu\text{g}}{\text{Kg}}\right)_b$ | Massa de pesticida por massa de matriz que contamina inicialmente a matriz |



"Que os alimentos sejam o teu remédio e
que os remédios sejam o teu alimento"

Hipócrates

1. INTRODUÇÃO

A produção, a distribuição e o consumo de alimentos são actividades fundamentais em qualquer sociedade e assumem hoje impactos consideráveis nos contextos socioculturais, económicos, político e ambientais^[1].

Os assuntos relacionados com a qualidade e a segurança nos alimentos adquiriram nos últimos tempos uma elevada importância e divulgação que passaram a fazer parte das preocupações dos consumidores, mesmo num país pequeno como Portugal^[2]. Nos últimos anos têm sido manchete de jornais, temas relacionados com alimentos contaminados: com produtos químicos, microrganismos susceptíveis de prejudicar a saúde a longo ou a curto prazo e com ingredientes provenientes de organismos geneticamente modificados^[3]. Doenças causadas por alimentos contaminados ainda são uma das principais causas de morte em diversos países^[4].

No esforço de minimizar os danos causados pelos inimigos das lavouras, os agricultores têm adoptado vários métodos que, isoladamente ou associados, na forma de controlo integrado, conseguem reduzir a baixos níveis os prejuízos causados por pragas, doenças e vírus^[5, 6]. Associado ao desenvolvimento da agricultura, a ampliação das fronteiras agrícolas, a modernização dos meios da produção, o aumento da qualidade e da quantidade dos produtos agrícolas têm exigido a aplicação de uma grande quantidade de compostos complexos, sintetizados pela indústria agroquímica, que incluem os fertilizantes e os pesticidas^[5-7].

No entanto, a ligação dos alimentos com a saúde é cada vez mais forte e os investigadores começam agora a estudar os benefícios que certos alimentos oferecem para além do seu valor nutritivo básico^[7].

O agricultor pode aplicar uma formulação no combate de uma peste, mas devido aos fenómenos de lixiviação, adsorção, absorção, volatilização, entre outros, pode contaminar outras culturas, mais ou menos distanciadas. Daí a importância da análise dos pesticidas seleccionados em diversos produtos agrícolas, mesmo que estes não sejam aplicados nesses alimentos. O conjunto dos pesticidas estudados da família dos carbamatos e das ureias foram extraídos e analisados, principalmente, em amostras de tomate, alargando depois o estudo às amostras de batata, cenoura, cebola e repolho. No entanto, devido aos fenómenos de lixiviação parte dos pesticidas aplicados pelos agricultores contaminam o solo à volta das culturas agrícolas. Por isso, o nosso trabalho engloba não só a extracção assistida por microondas de pesticidas carbamatos e ureias nos produtos agrícolas como em solos com características físico-químicas diferentes.

1.1. Caracterização genérica dos produtos agrícolas e dos solos portugueses, objectos de estudo

1.1.1. O solo português

Pode-se definir o solo como a camada superficial da Terra, que desempenha como principal função ser suporte e fonte de nutrientes para a vegetação e, como tal, base de toda a cadeia alimentar. Constituído por minerais, matéria orgânica, organismos vivos, ar e água, o solo contribui com um sistema complexo e interactivo na regulação do ciclo hidrológico, nomeadamente através da sua capacidade de transformação, filtro e tampão. É no solo que se situam os aquíferos que abastecem a maioria das populações com água potável^[8].

A estrutura do solo depende do tratamento que recebe, e a produtividade das culturas agrícolas e longevidade da sua bioestrutura reflectem a sua adequação^[8]. A existência de solos contaminados é um facto indiscutível e ambientalmente preocupante, que tem movimentado esforços da comunidade técnica e científica, no sentido da procura de soluções para a sua reabilitação. De acordo com o Instituto Nacional de Resíduos (INR), a contaminação dos solos em Portugal está relacionada com um desenvolvimento industrial insustentável, com a deposição descontrolada de resíduos, com o manuseamento ou o armazenamento impróprio de substâncias perigosas e com o uso excessivo de adubos e pesticidas^[9, 10].

Em Abril de 2006 foi apresentado o Relatório de Estado do Ambiente-2004 (REA) no qual refere que no ano 2000, como se pode verificar na fig. 1a, a floresta e a agricultura, foram

as classes de ocupação do solo com maior representatividade, ocupando, no conjunto, 72 % do total do território de Portugal continental. A grande parte da floresta nacional (41 %) encontra-se na região Centro, enquanto 43 % da agricultura se concentra no Alentejo (fig. 1b)^[8].

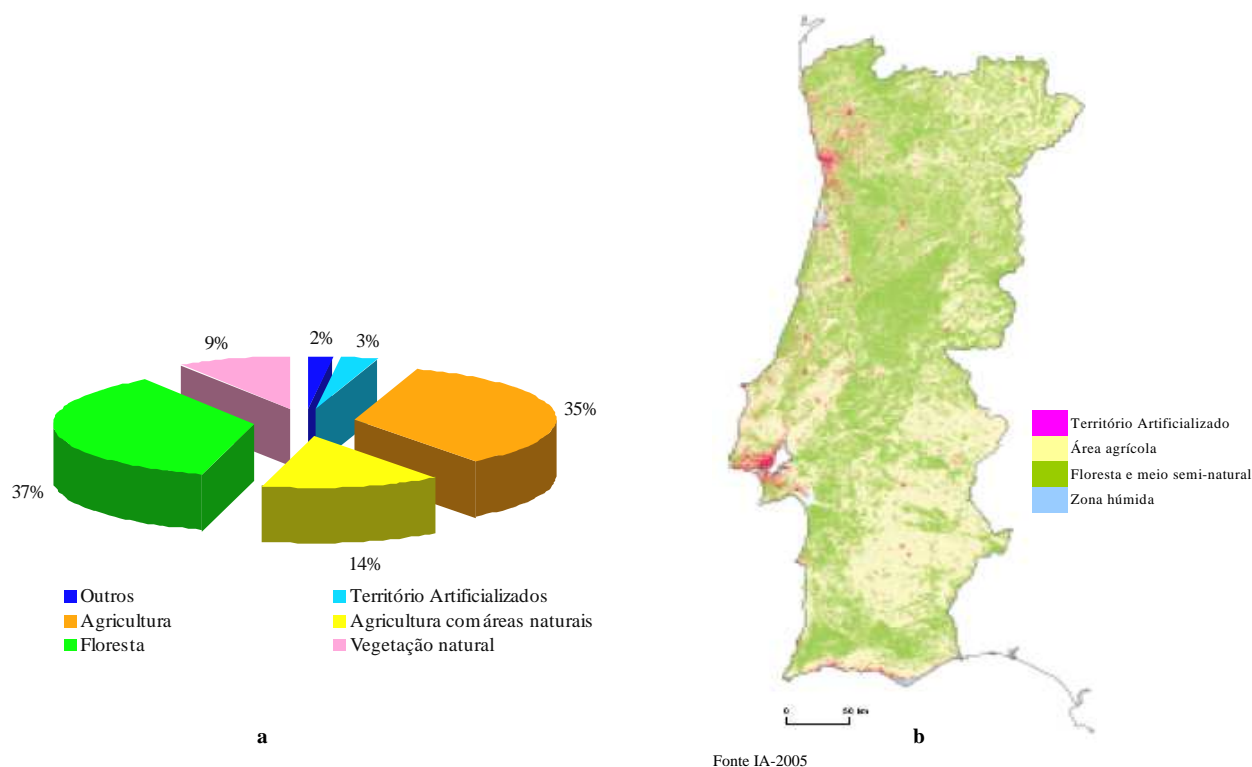


Fig. 1: Ocupação do solo em Portugal continental em 2000; **a)** distribuição do solo Português; **b)** localização geográfica das utilizações do solo (extraído de ^[8]).

Nos últimos 40 anos, cerca de um terço dos solos agrícolas mundiais deixaram de ser produtivos do ponto de vista agrícola, devido à erosão. Actualmente, cerca de 77 % das terras da UE (União Europeia) correspondem a áreas agrícolas e silvícolas, evidenciando a importância da política agrícola no território^[9].

Portugal apresenta os valores mais desfavoráveis entre os países do Sul da Europa, com 66 % dos seus solos classificados de baixa qualidade, de acordo com a Carta de Solos de Portugal. São poucos os solos em Portugal com boa aptidão agrícola, sendo a principal causa da degradação do solo a erosão provocada pela precipitação. Portugal possui um clima mediterrânico caracterizado por uma distribuição irregular de chuva, ocorrência de secas e precipitação mais intensa em períodos não vegetativos^[9].

Cerca de 88,2 % dos solos em Portugal continental apresentam um pH inferior ao ideal para o crescimento da vegetação ($\text{pH} < 6,5$). O facto do solo ser ácido facilita a lixiviação de compostos químicos e nutrientes para as camadas inferiores da litosfera, contribuindo para a contaminação das águas subterrâneas^[10]. Apenas 29,6 % do solo de todo o território continental apresentam níveis entre médios a altos de matéria orgânica^[11]. Algumas características do solo Português encontram-se resumidas na tab. 1 transcritos do REA de 1999^[11]. Quando os solos são orgânicos, estes apresentam teores superiores a 15 % de matéria orgânica. Dos solos nacionais cultivados apenas 11 % contêm matéria orgânica suficiente e 57 % de fósforo necessário à produção agrícola, donde resulta a necessidade de recorrer a fertilizantes^[8, 10]. Os agrónomos consideram que os solos com matéria orgânica inferior a 1,7 %, encontram-se numa fase de pré-desertificação^[9].

Para avaliar o potencial impacto dos contaminantes do solo, há que ter em conta não só a sua concentração mas também o seu comportamento no ambiente e o mecanismo de exposição ao Homem^[9].

Tab. 1: Características dos solos incluídos na superfície agrícola de Portugal Continental (extraído de ^[11]).

| | Valores de referência | | Superfície agrícola (%) |
|---|-----------------------|-----------|-------------------------|
| Teor natural de matéria orgânica (%) | Altos | > 2,0 | 27,4 |
| | Médios | 1,0 a 2,0 | 2,20 |
| | Baixos | < 1,0 | 70,4 |
| pH | Altos | > 6,5 | 11,8 |
| | Médios | 5,5 a 6,5 | 5,30 |
| | Baixos | < 5,5 | 82,9 |

1.1.2. A cebola, a cenoura, o repolho e a batata

O hábito de comer vegetais diariamente e a cada refeição vem diminuindo cada vez mais, ao mesmo tempo que um número crescente de estudos científicos enfatiza a importância destes alimentos na prevenção e mesmo terapia da maioria das doenças degenerativas modernas^[12].

Deve-se comer uma boa variedade de vegetais de raiz (cenoura, nabo, rábano, bordana, rabanete, etc.), vegetais redondos (abóbora, brócolos, couve-flor, couve lombarda, etc.) e vegetais de folha (grelos, couve portuguesa, agriões, nabiças, etc.). Estes vegetais fornecem

vitalidade, frescura, flexibilidade, melhoram o funcionamento de órgãos como o intestino, beneficiam órgãos como o estômago, o baço e activam os pulmões, o coração e o fígado^[12].

Ao longo dos anos, a fruta tem sido um alimento consumido antes, durante e após as refeições, na medida que lhe é atribuída propriedades como: fonte de energia rápida, fonte de vitaminas e minerais, grandes quantidades de antioxidantes, alimento saboroso e de fácil digestão. Numerosos estudos demonstraram que as pessoas que comem grande quantidade de fruta beneficiam de uma menor incidência de cancro, ataque cardíaco e acidente vascular cerebral (AVC)^[7].

Além de diminuir a incidência de doenças, os vegetais e os frutos podem aumentar a capacidade do organismo para neutralizar os compostos potencialmente tóxicos aplicados na agricultura. Vários nutricionistas e investigadores comprovaram que o consumo diversificado de vegetais e fruta ajuda a minimizar a exposição aos pesticidas^[7].

A cebola, a cenoura, o repolho, a batata e o tomate são os vegetais e fruto alvos deste estudo por estarem quase sempre presentes na "mesa portuguesa".

A cebola

Um estudo publicado nos Estados Unidos da América (E.U.A.) refere a significativa correlação entre a elevada ingestão de flavonóides dietéticos e a redução do risco de cancro no pulmão. Entre as fontes alimentares de flavonóides que oferecem melhor protecção enumeram-se a cebola, a maçã e a toranja-branca^[7].

A cebola (fig. 2) é o nome vulgar da planta cujo nome científico é *Allium cepa* Lineu. No sistema taxonómico mais antigo, a cebola pertencia à família das *Liliáceas* e à subfamília das *Alioídeas* e no sistema taxonómico mais recente incluem-na na família das *Alliaceae*^[13].



Fig. 2: Cebola (extraído de ^[13]).

A cebola é provavelmente, a mais antiga planta cultivada. Crua ou cozida, sempre foi um alimento importante, através do tempo^[14]. Originária do centro da Ásia, esta planta atingiu a Pérsia, de onde irradiou para a África e por todo o continente europeu. Do Velho Mundo, foi trazida para as Américas, pelos primeiros colonizadores^[15].

Na Europa medieval, era tão valiosa que era usada como pagamento de rendas e ofertas de casamento^[14]. Na época dos Egípcios, juntamente com o alho e o rabanete, era um dos principais alimentos dos trabalhadores que construíam as pirâmides, por isso, pensava-se que a cebola tinha verdadeiros poderes mágicos^[14]. Cultivada também pelos Romanos, presente no cabrito dos Bizantinos, e ingrediente indispensável no pão que servia como base à alimentação dos Assírios, a cebola era consumida em grande quantidade pelos soldados, por ser considerada grande fonte de vigor e coragem^[16]. Nas pinturas tumulares egípcias, são mais frequentes as representações de cebolas do que as de qualquer outra planta e, segundo os primitivos escritos hebraicos, as cebolas eram um alimento de que os judeus mais sentiram falta depois da fuga do Egito^[7]. Existe uma expressão francesa: "*regretter les oignons d'Egypte*" (chorar pelas cebolas do Egito), que significa sentir saudades do passado, mesmo que este tenha tido algumas contrariedades^[16]. Finalmente, ao longo da história, os curandeiros atribuíram às cebolas propriedades quase mágicas para curar tudo, desde calvície a infecções^[7].

A cebola contém uma grande quantidade de um flavonóide, a quercetina, um poderoso antioxidante que bloqueia a formação de células cancerosas. A quercetina é um anti-inflamatório, antibiótico e antiviral e, tal como o betacaroteno, não é destruído pela cozedura^[17]. Possui um ligeiro efeito antibacteriano que permite ajudar a prevenir infecções superficiais. A cebola impede a reprodução da bactéria *Helicobacter pylori*, que causa úlceras e envenenamentos alimentares^[7], ajuda a diminuir o nível de colesterol, a fluidificar o sangue, a evitar a formação de coágulos e a diminuir a pressão arterial^[7, 17]. A cebola comida crua provoca mau hálito e odor corporal, é pobre na maior parte dos nutrientes e pode causar flatulência^[7].

A cenoura

A cenoura (*Daucus carota*) pertence à família das *Apiaceae*, é originária do Afeganistão^[7, 18] e o seu antepassado selvagem é a cenoura silvestre^[19]. A cenoura chegou à Europa, no século XIII e os antepassados utilizavam a cenoura cozida para curar as doenças^[18].

No início as cenouras apresentavam tonalidades diferentes: cor púrpura, branca e amarela (fig. 3a). A cenoura laranja (fig. 3b) foi desenvolvida na Holanda como tributo a

Guilherme I de Orange durante a luta holandesa de independência da Espanha, no século XVI^[19].



Fig. 3: a) Cenouras com diferentes tonalidades e **b)** cenoura com a tonalidade laranja (extraído de ^[19]).

As cenouras são a fonte mais abundante de betacaroteno, composto que pode funcionar como antioxidante e também ser convertido pelo organismo em vitamina A. Esta vitamina é essencial à saúde do cabelo, pele, olhos, ossos e membranas mucosas, protege as células contra as viroses, combate o cancro e evita doenças cardiovasculares^[7, 17]. Estudos demonstraram que doses elevadas de betacaroteno podem ajudar a diminuir o risco de doenças cardiovasculares em cerca de 45 %. Quanto mais viva é a cor da cenoura maior é a quantidade de betacaroteno presente^[17].

A vitamina K, igualmente presente na cenoura, facilita a coagulação do sangue e a cicatrizar das feridas, enquanto que as suas fibras ajudam a digestão e o bom funcionamento do coração. O crómio contido nas cenouras ajuda a estabilizar os níveis de açúcar no sangue, tornando-a um importante auxiliar no controlo de diabetes e das quebras de açúcar^[17]. A cenoura é uma boa fonte de fibra dietética e potássio, ajuda a prevenir a cegueira noturna, e pode contribuir para a descida dos níveis de colesterol do sangue. No entanto a ingestão excessiva pode dar um tom amarelado à pele^[17].

O repolho

O repolho (fig. 4) é uma hortaliça de cabeça formada pela sobreposição de folhas; as folhas superiores do caule aparecem encaixadas umas nas outras formando o que é designado como uma "cabeça" compacta^[20]. O repolho (*Brassica oleracea*, grupo *Capitata*) é uma das variedades de couve, sendo um dos vegetais mais utilizado na cozinha, em diversas aplicações (sopas, conservas, acompanhamentos, etc.). É uma planta bianual, herbácea, da família das *Brassicaceae* ou *crucíferas* (como a couve, o brócolo, a couve-flor, a couve-chinesa e o rabanete)^[7, 17].



Fig. 4: Repolho (extraído de ^[17]).

É originário da Europa Mediterrânea e Ásia Menor, é uma das hortaliças de uso mais antigo (2000 anos a.c.)^[21]. Por ser considerado uma fina iguaria pelos gregos e romanos, era cultivado em diversas formas. Vários investigadores acreditam que o repolho tenha sido introduzido na Europa pelos Celtas no século IX e levado para a América pelos conquistadores europeus por volta do século XV^[22].

O repolho contém quantidades importantes de sais minerais como o cálcio e o fósforo, é rico em vitaminas B1, B2, E e K, mas destaca-se por ser rico em vitamina C, eficaz na protecção contra certos tipos de cancro^[7, 21, 22].

A batata

A batata (fig. 5) é uma das mais baratas e acessíveis fontes de vitamina C, um nutriente essencial para o funcionamento do sistema imunitário^[17].

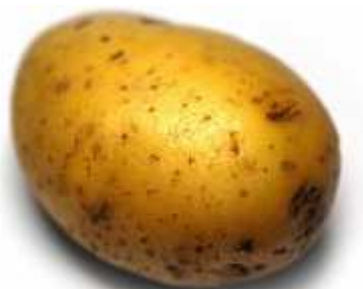


Fig. 5: Batata (extraído de ^[7]).

A batata (*Solanum tuberosum*) é um tubérculo perene pertencente à família das *Solanaceae* como o pimento, a beringela e o tomate. É um dos vegetais mais utilizados na Europa, na América do Norte e na América do Sul^[23].

A batata é originária dos Andes e começou a ser cultivada pelos índios do Peru há pelo menos 4000 anos. A batata atravessou o Atlântico por volta de 1570 nos navios dos conquistadores espanhóis e expandiu-se lentamente por toda a Europa a partir de Espanha^[24], onde passou a ser alimento básico dos pobres^[7].

A batata é muito nutritiva e pobre em calorias, é um alimento barato, saciante e nutritivo. A sua pele é uma boa fonte de vitamina B6 e fibra^[7]. A vitamina B6 é utilizada na produção de aminoácidos que reforçam o sistema imunitário, essencial para nos mantermos saudáveis, esta vitamina ajuda os fagócitos a remover tecidos mortos^[17]. O sumo de batata crua é um bom curativo gástrico (úlceras). As batatas novas têm mais vitamina C, no entanto a batata verde ou grelhadas contêm solanina, substância potencialmente tóxica^[7].

Hoje a batata é a terceira cultura mais importante como fonte de alimento no mundo, sendo apenas superada pelo arroz e o trigo^[7, 25].

1.1.3. O tomate

O tomate, *Lycopersicon esculentum*, (fig. 6) assim como a batata, a beringela e o pimento, pertence à família das solanáceas^[26]. Foi trazido da América Central, apenas como planta decorativa devido à sua bela forma amarela (cor original), para a Europa pelos Espanhóis no século XVI. O tomate não era consumido uma vez que os Europeus temiam que o veneno existente nas folhas pudesse estar também presente no tomate^[27]. Somente no século XIX, este fruto, passou a ser consumido e cultivado na Itália, espalhando-se rapidamente por toda a

Europa^[28]. Hoje em dia, o tomate constitui uma das principais culturas vegetais à escala mundial (embora, tecnicamente, o tomate seja um fruto)^[7].

Quando chegou à Europa por Nápoles, o tomate era conhecido como a "maçã de ouro"^[29], e o tomate tipo бага, era chamado de "maçã do amor" no século XVI. O seu sabor depende mais da variedade e do grau de maturação do que do local onde amadureceu^[7].



Fig. 6: Tomate (extraído de ^[7]).

O tomate é uma boa fonte de vitaminas (A, B, C e E) e sais minerais (fósforo, ferro, potássio e magnésio). Possui aproximadamente 93 a 95 % de água e contém baixo teor de calorias^[30, 31]. Existem mais de 7.000 espécies de tomate, todas elas ricas nos mais variados nutrientes^[17].

A cor vermelha e amarela do tomate é função da presença de carotenóides específicos: o licopeno e o betacaroteno, respectivamente. Nos tomates verdes o pigmento essencial à fotossíntese (clorofila), é retida com o amadurecimento e nos tomates roxos a cor deve-se a uma outra classe de pigmentos, as antocianinas^[32].

Um estudo de Harvard demonstrou que os homens que comem regularmente alimentos à base de tomate possuem taxas mais baixas de cancro da próstata. Embora nenhum alimento possa, por si só, prevenir completamente o cancro, os investigadores afirmaram que o licopeno é o agente natural no tomate que combate o cancro, este nutriente antioxidante protege o organismo contra lesões causadas às células pelos radicais livres. O licopeno existe também na toranja-rosa e na melancia, mas a sua maior concentração é na polpa do tomate^[7].

A substância gelatinosa ao redor das sementes do tomate contém, na realidade, valores elevados de salicilatos, que têm um efeito anticoagulante no sangue. Isto pode ser parcialmente responsável pela protecção que o tomate oferece contra as doenças cardíacas. O tomate contém um composto denominado ácido clorogénico, que pode ajudar a proteger o organismo de certos

tipos de cancro bloqueando os efeitos de toxinas ambientais, como, por exemplo, as nitrosaminas, compostos cancerígenos presentes no fumo do tabaco e na carne fumada^[7].

O tomate é um excelente vigorizador do organismo, e purificador do sangue. Combate as doenças do fígado, o desgaste mental, as perturbações digestivas e pulmonares, estimula a secreção gástrica e a acção depurativa do sangue. É um auxiliar nos tratamentos de: pele, gota, reumatismo, astenia e prisão de ventre. Favorece o crescimento e a ossificação, além de ajudar contra as infecções bacterianas, perturbações digestivas e pulmonares. É eficaz em tratamentos contra a caspa e queda de cabelos^[33]. Mas o tomate é contra-indicado para pessoas que sofram de fermentações gástricas e acidez no estômago^[30]. No entanto, o tomate possui substâncias tóxicas, as solaninas, existentes em quantidades mínimas nas solanáceas, podendo provocar dores de cabeça em pessoas susceptíveis a essa toxina^[7]. Existe uma substância no tomate que ainda não foi identificada e que pode causar refluxo gastro-esofágico, provocando indigestão e azia^[7].

Produção do tomate

O tomate tem a vantagem de poder ser consumido em fruto ou transformado (concentrado, em polpa ou sem pele). Este fruto continua a ser o ingrediente mais usado nos mais variados pratos, de sopas a guisados, sobretudo por ser um intensificador de sabores^[34, 35].

A produção de concentrado de tomate em Portugal teve a sua origem em 1939. Os primeiros esforços foram feitos no vale do Tejo, inicialmente em pequena escala^[36]. Na fig. 7, pode observar-se a variação da produção do tomate em Portugal desde 1961 até 2005, segundo os dados estatísticos da Organização das Nações Unidas para a Agricultura e a Alimentação (FAO)^[37]. Nos últimos três anos, Portugal processou em média 903.000 toneladas/ano, que representa 11,5 %, 8,5 % e 3,7 % da produção europeia, mediterrânica e mundial, respectivamente^[36]. As principais Regiões do País produtoras de tomate em fruto são: *Entre-Douro e Minho* com duas áreas de produção na Póvoa de Varzim e em Braga; no *Ribatejo Oeste* na Lourinhã e em Torres Vedras; no *Algarve* na zona de Silves e na faixa entre Faro e Castro Marim. A produção do tomate para a indústria concentra-se no *Ribatejo* e no *Baixo Alentejo* (Almeirim, Benavente e Azambuja). Principal produção horto-industrial do país, Portugal não é auto-suficiente neste produto, tendo que recorrer à importação, principalmente nos meses de Agosto e Setembro^[38].

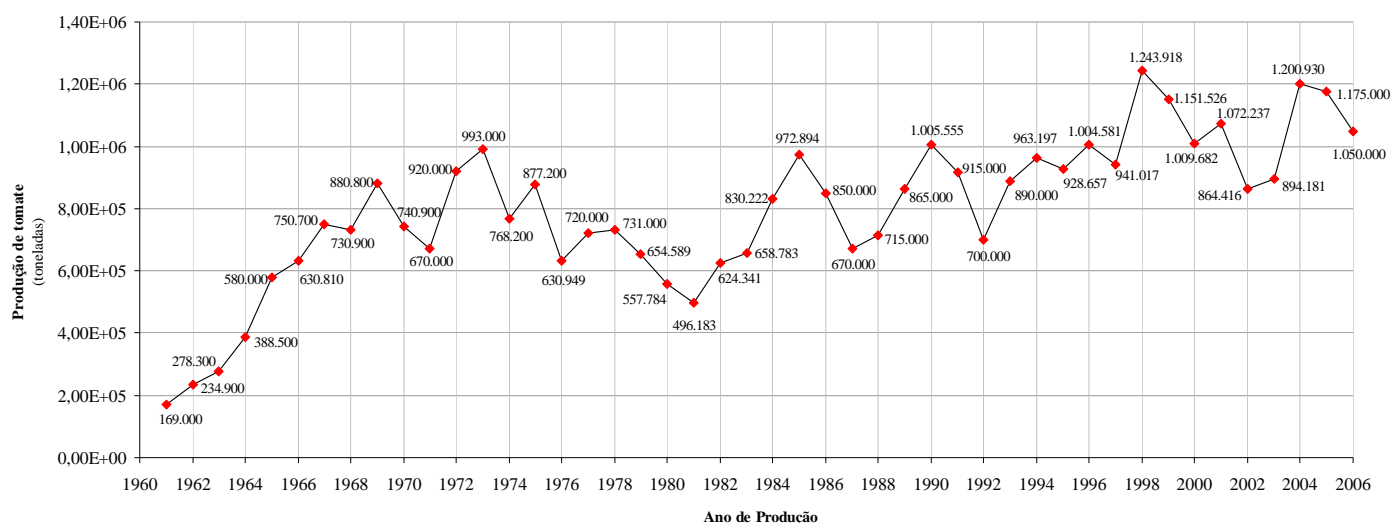


Fig. 7: Produção de tomate em Portugal, desde 1961 até 2005, segundo os dados estatísticos da Organização das Nações Unidas para a Agricultura e a Alimentação (FAO)^[37].

O Tomate é a única cultura de regadio, que ocupa cerca de 14.500 hectares dos melhores terrenos de regadio nacionais (no Sul e Centro do País), cujo sector representa 712 produtores na última campanha e 32 organizações^[34, 39-42], sendo o Ribatejo, o coração da produção do tomate em Portugal^[36]. Nos últimos 10 anos, a área de exploração de tomate em Portugal desceu, mas a produção de tomate subiu no mesmo período, devido à política de subsídios e de ajudas nos preços^[43].

Os industriais e produtores de tomate portugueses estão preocupados com a invasão no mercado europeu do tomate proveniente da China, país que em cinco anos se transformou no terceiro maior produtor mundial a nível global. A China produz tomate com baixos custos e exportam-no mais barato não só para a Europa como para outros continentes^[34]. Em 2005 mundial lideram a produção de tomate (fig. 8) a China e os EUA^[35, 37-40, 42]. Os últimos dados sobre o sector do tomate em Portugal para 2005, segundo a Associação dos Industriais de Tomate (AIT), apontam para que o nosso país seja o sexto produtor mundial a nível global, mas o segundo produtor mundial em termos de rendimento agrícola e em igual posição em relação ao custo de entrega do tomate, e o terceiro a nível mundial no rendimento para o produtor^[35, 40, 42, 44].

O secretário-geral de AIT indicou, que 2006 é um ano com excesso de produção de tomate, o que deve pressionar para novas descidas de preços. Em comunicado, os produtores referem que a China e os EUA vão quase duplicar as suas produções em 2006, enquanto a Europa deverá registar um ligeiro decréscimo^[43].

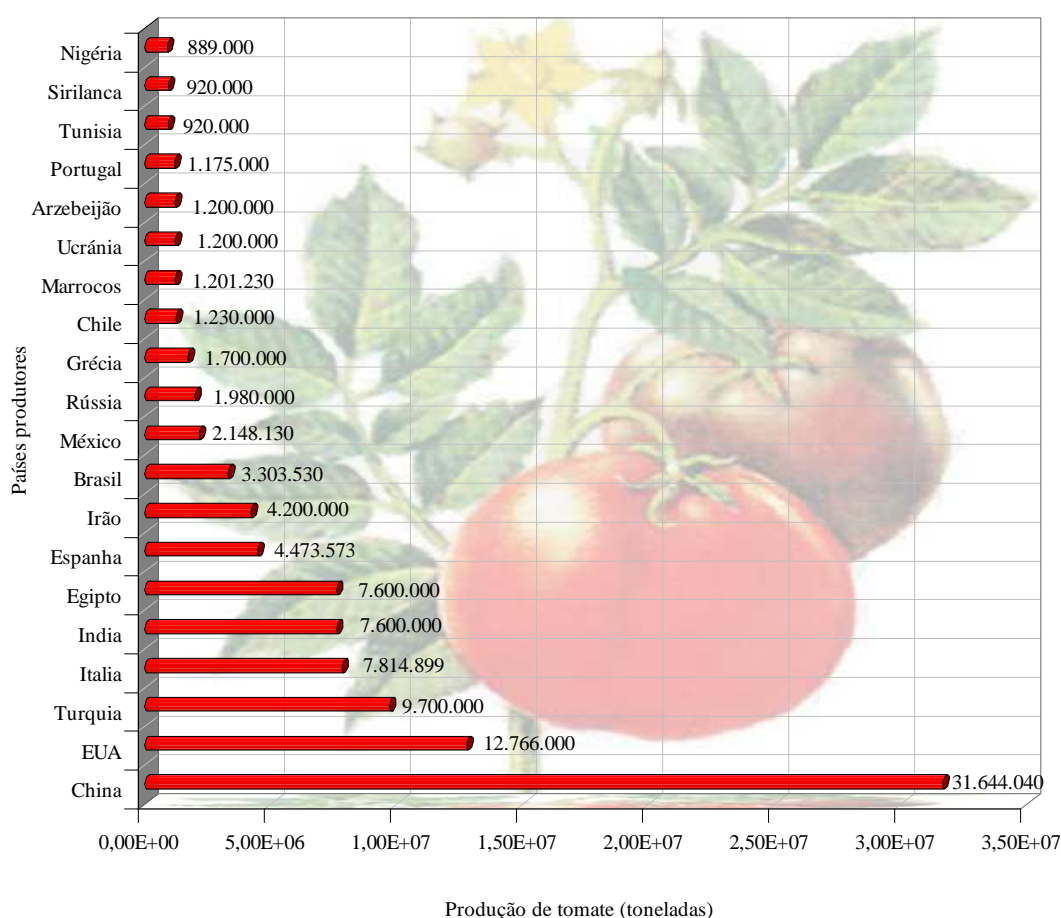


Fig. 8: Países produtores e quantidade de tomate produzida (toneladas) em 2005, segundo os dados estatísticos da Organização das Nações Unidas para a Agricultura e a Alimentação (FAO)^[37].

Os produtores mencionam que a actual crise do sector resulta da "quase ausência de procura interna", pelo que a aposta dos produtores deverá incidir no desenvolvimento do consumo de derivados de tomate^[43]. A adesão de Portugal à União Europeia (UE) veio facilitar as trocas intracomunitárias e proporcionar um aproveitamento de vantagens com base nos preços mínimos, ajudas na transformação e a nível da qualidade^[45].

Acaba de ser aprovado pela Comissão Europeia (CE) um regulamento que fixa o montante da ajuda para o tomate destinado à transformação, para a campanha de 2006/2007. Esta ajuda no sector dos produtos transformados à base de tomate, fixada em 34,5 euros/tonelada, é atribuída às Organizações de Produtores que entreguem para transformação tomate colhido na Comunidade, estando no entanto sujeita a um regime de limiares de transformação que foram estabelecidos. O limiar comunitário será de 8.251.455 toneladas de tomate produzidas e o limiar para Portugal foi estabelecido em 1.050.000 toneladas^[46].

1.1.3.1. As principais doenças, pragas, vírus do tomate e pesticidas usados no combate

À semelhança de outros produtos agrícolas, a cultura do tomate, que no nosso País, se desenvolve durante todo o ano, está sujeita ao ataque de um grande número de fungos, pragas e vírus, principalmente durante o período de crescimento dos frutos^[38]. As doenças causadas por bactérias, vírus e nemátodes podem ser bastante graves, reduzindo a quantidade e a qualidade dos produtos obtidos. Geralmente o controlo destas doenças é mais difícil quando a cultura é atacada por fungos^[38].

Nos subcapítulos seguintes pormenorizar-se-ão algumas das infestações que ocorrem na cultura do tomateiro, apresentando no anexo I (Pág. 191 à 195), as formulações aplicadas com a identificação da respectiva substância activa (s.a.) para todas as doenças, pragas e vírus^[38, 47, 48].

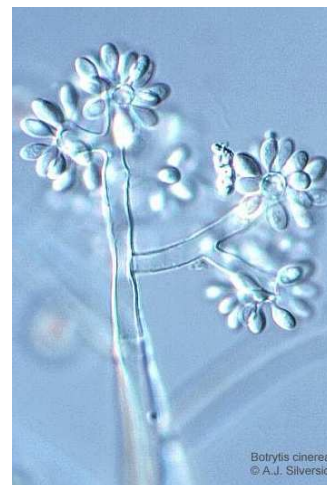
1.1.3.1. a) Doenças

As doenças que aparecem no tomate são: a Podridão cinzenta, o Míldio do tomateiro, a Alternaria do tomateiro, o Oídio do tomateiro, a Antracnose do tomateiro, a Bacteriose do tomateiro, a Cladosporiose do tomateiro, a Murchidão das plântulas do tomateiro e a Septoriose do tomateiro^[47].

1.1.3.1. a₁) Podridão Cinzenta

Doença provocada pelo fungo *Botrytis cinerea* (fig. 9). Este fungo quando ataca as culturas, provoca a diminuição da produção e uma acentuada diminuição da qualidade dos frutos. O sintoma típico é uma podridão húmida de aspecto acastanhado que normalmente é envolvida por bolor de cor cinzenta^[49].

Fig. 9: Visualização por microscópio do fungo *Botrytis cinerea* (fotografia ampliada 500x), a forma do fungo assemelha-se a um cacho de uvas (extraído de ^[49]).



O tomateiro é muito vulnerável à podridão cinzenta. Esta doença ataca o caule (fig. 10a), as folhas (fig. 10b), a flor (fig. 10c) e os frutos (fig. 10d). O fungo, muitas vezes, começa por atacar as pétalas após o nascimento do fruto, dado que são tecidos muito susceptíveis à *Botrytis cinerea*, principalmente com temperaturas amenas e alguma humidade^[38]. A podridão provoca a destruição das flores (fig. 10c) e quando ataca os frutos, os estragos são mais notórios na medida que aparecem grandes manchas (fig. 10d), com posterior deterioração dos tecidos e queda dos frutos. Boas práticas culturais são importantes para o controlo desta doença, como por exemplo um bom arejamento e a remoção dos frutos contaminados^[38, 50].

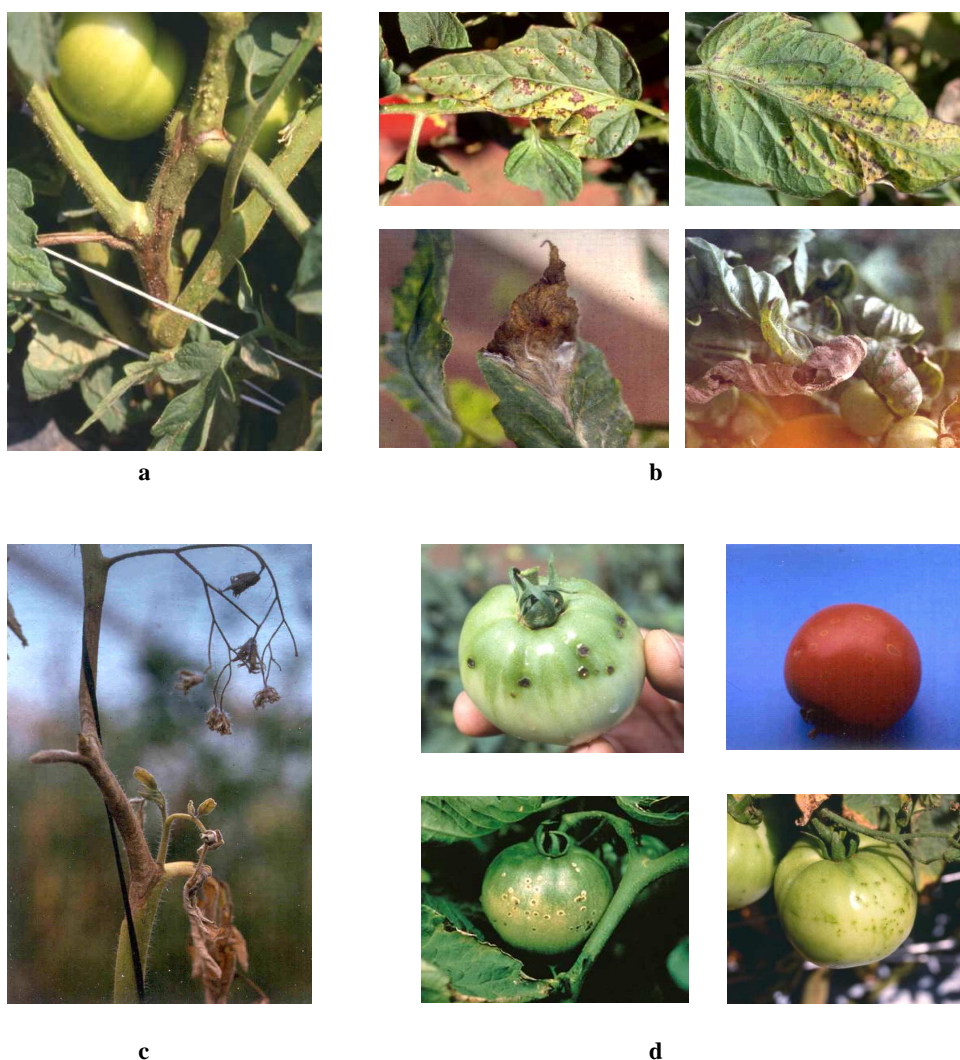


Fig. 10: Danificação dos diferentes órgãos do tomateiro pelo fungo *Botrytis cinerea*: **a)** no caule, **b)** nas folhas, **c)** na flor e **d)** nos frutos (maduros e verdes) (extraído de ^[38, 50]).

Os pesticidas aplicados no combate da doença podridão cinzenta são: tolifluanida, fenehexamida, carbendazime, dierofencarbe, ciprodinil, fludioxonil, procimidona e pirimetanil^[47].

1.1.3.1. a₂) Míldio do tomateiro

O míldio, *Phytophthora infestans* (Mont.) du Bary, (fig. 11) é uma doença muito frequente principalmente em culturas de estufa^[48].



Fig. 11: Visualização por microscópio do fungo *Phytophthora infestans* (Mont.) du Bary (fotografia ampliada 500x) (extraído de ^[48]).

O míldio afecta as culturas das Solanáceas (batata, tomate, beringela e pimento). A doença aparece normalmente em focos isolados, mas pode evoluir rapidamente e provocar a destruição total da vegetação e da produção. A planta deve ser tratada, mal se detecte os primeiros sinais da infecção^[48].

O fungo pode atacar as folhas (fig. 12a), o caule (fig. 12b) e os frutos (fig. 12c). Nas folhas aparecem manchas ao longo das margens dos folíolos que se desenvolvem por toda a folha, ao mesmo tempo que se observa uma esporulação esbranquiçada na parte inferior da folha (fig. 12a) e no caule formam-se grandes manchas acastanhadas (fig. 12b). Esta doença desenvolve-se rapidamente em condições de temperaturas de 20 °C e uma humidade elevada^[50]. A propagação da doença pela planta é igualmente promovida por períodos húmidos, quentes ou tempestuosos^[38]. Deve-se destruir os vegetais e os rebentos infectados pelo míldio, uma vez que são fontes de infecção primária. O recurso à luta química é indispensável quando aparecem os primeiros focos na região, devendo efectuar-se um tratamento preventivo de segurança muito cedo, antes do aparecimento de qualquer sintoma^[48]. As boas práticas agrícolas ajudam a combater a doença, mas sempre que as condições não são favoráveis, é necessário efectuar tratamentos com produtos químicos^[50].

Os pesticidas aplicados no combate da doença do míldio do tomateiro são: azoxistrobina, benalaxil, mancozebe, cimoxanil, folpete, metalaxil, captana, tolifluanida, propineb, mistura bordalesa, ciazofamida, metirame, clortalonil, cobre (hidróxido), cobre (sulfato) e dimetomorfe^[47].

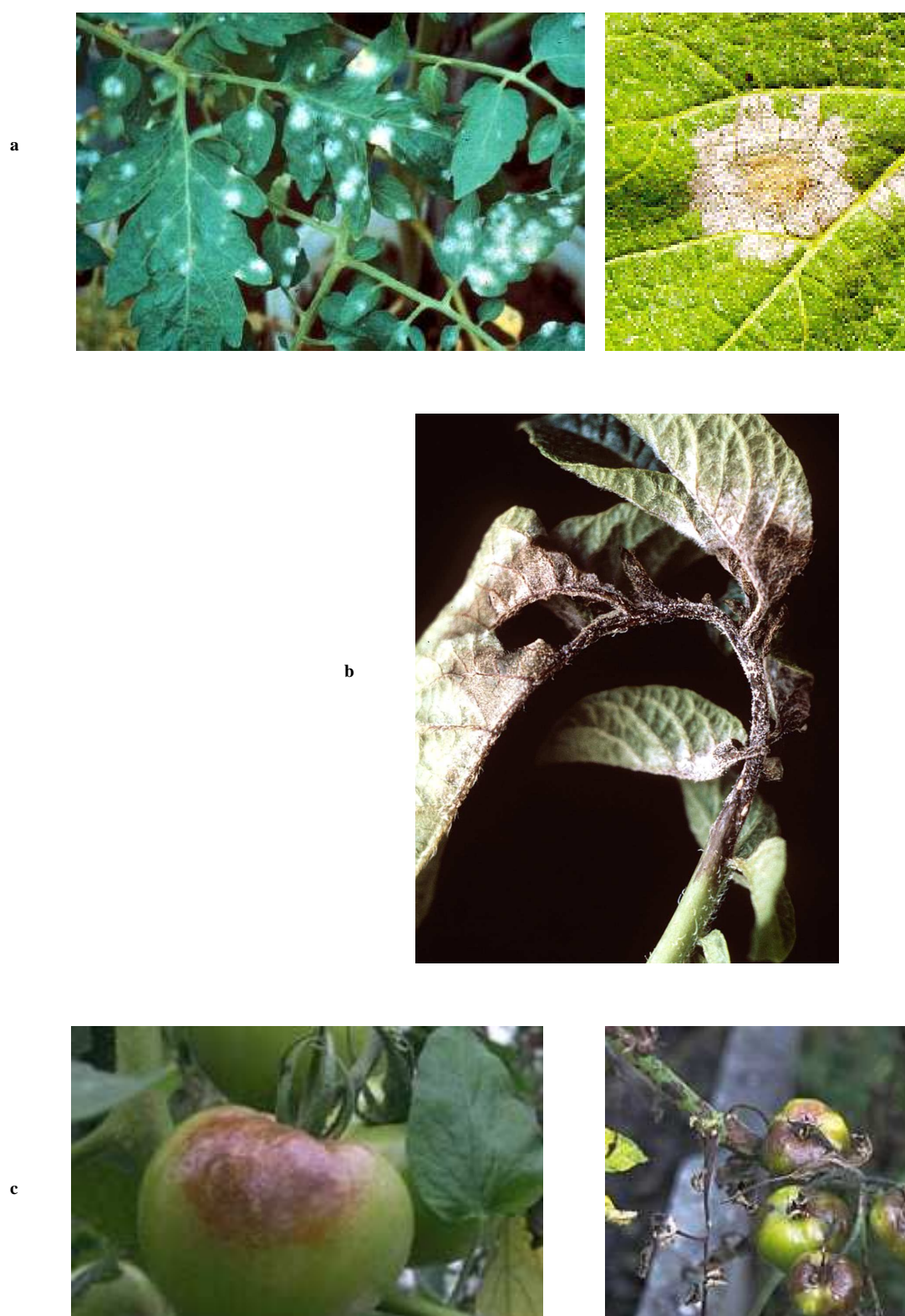


Fig. 12: Danificação dos diferentes órgãos do tomateiro pelo fungo *Phytophthora infestans* (Mont.) du Bary: **a)** nas folhas, **b)** no caule e **c)** nos frutos (extraído de ^[48, 50]).

1.1.3.1. a₃) *Alternaria* do tomateiro

A alternaria, *Alternaria dauci*, ataca as culturas de trigo, arroz, soja, algodão, feijão, milho, sorgo, cenoura, tomate e girassol. Temperaturas entre os 18 e 25 °C e humidade elevada são condições óptimas ao desenvolvimento deste fungo^[38].

As espécies de *Alternaria* (fig. 13) são facilmente reconhecidas pelos conídios de grandes dimensões, tipicamente ovóides, de cor castanha, com septos longitudinais, transversais e às vezes oblíquos, formados em cadeias ou solitários^[51].



Fig. 13: Visualização por microscópio do fungo *Alternaria dauci* (fotografia ampliada 500x) (extraído de ^[51]).

A alternaria ataca as folhas, o caule e os frutos. Nas folhas mais velhas (fig. 14a) aparecem manchas em círculo de cor castanhas que levam à destruição das folhas. Nos frutos, os sintomas manifestam-se através de uma mancha escura com depressão na zona do pedúnculo do fruto (fig. 14b)^[38]. Esta doença pode causar a desfolha, a secagem dos ramos e a queda de frutos. Os frutos com os sintomas da doença perdem o valor comercial^[51].

Os pesticidas aplicados no combate da doença da alternaria do tomateiro são: azoxistrobina, captana, clortalonil, difenoconazol, mancozebe e metirame^[47].



Fig. 14: Danificação dos diferentes órgãos do tomateiro pelo fungo *Alternaria dauci*: **a)** nas folhas e **b)** no fruto (extraído de ^[38, 47, 50]).

1.1.3.1. a₄) Oídio do tomateiro

O Oídio, *Leveillula taurica*, ataca mais frequentemente as culturas em estufa, com temperaturas entre os 18 e 24 °C e humidade entre 70 e os 100 % ^[38, 50].

Este fungo só se desenvolve nos tecidos vivos e susceptíveis da planta hospedeira. Sobrevive nas folhas velhas em condições não favoráveis, onde produz conídios (fig. 15) que infectam as folhas, flores e frutos novos. A infecção na planta é observada por uma espessa camada acinzentada. Em infecções severas as plantas apresentam desfolhamento precoce. Nas folhas, a doença dissemina-se para os caules, ramos e frutos, podendo ocorrer a atrofiação e o fruto cair antes de atingir a maturação ^[38, 50].

A doença manifesta-se nas folhas, através de manchas amareladas (fig. 16a) que ficam cobertas de esporulação esbranquiçada (fig. 16b). As folhas mais velhas secam, mas mantêm-se fixas ao caule (fig. 16c) ^[38, 50]. Os primeiros sintomas e sinais são sempre encontrados em plantas mais adultas e folhas mais velhas, uma vez que são mais susceptíveis ao fungo ^[52].

Os pesticidas aplicados no combate da doença do oídio do tomateiro são: dinocape, azoxistrobina e enxofre ^[47].



Fig. 15: Visualização por microscópio do fungo *Leveillula taurica* (fotografia ampliada 500x) (extraído de ^[50]).

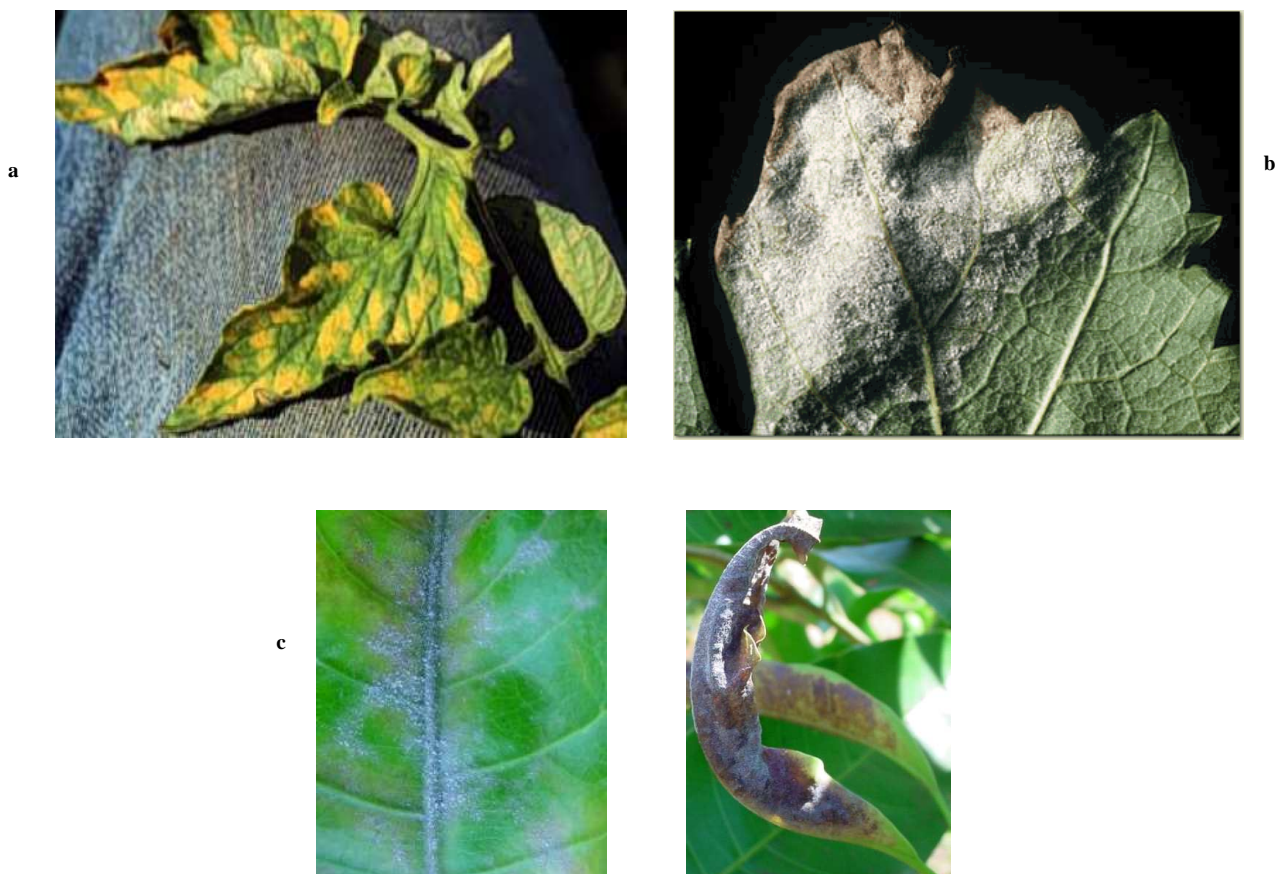


Fig. 16: Danificação observada nas folhas pelo fungo *Leveillula taurica*: **a)** a doença manifesta-se com uma cor amarelada, **b)** as folhas ficam cobertas de esporulação esbranquiçada e **c)** as folhas mais velhas secas (extraído de ^[38, 50]).

1.1.3.1. b) Pragas

As pragas que aparecem no tomate são: a Lagarta do tomateiro, a Mosca branca, os Ácaros do tomateiro, os Afídeos do tomateiro, a Larva mineira do tomateiro, a Melolonta do tomateiro, as Nóctuas do tomateiro, a Scritigerela do tomateiro e as Tripes do tomateiro^[47].

1.1.3.1. b₁) Lagarta do tomateiro

Helicoverpa armigera é uma praga que provoca grandes estragos nos frutos, causando graves prejuízos^[38, 53]. É oriunda da costa do Mediterrâneo, e encontra-se distribuída no: centro e sul da Europa, Ásia, África, Austrália e Ilhas do sudeste do Oceano Pacífico. *Helicoverpa armigera* em Portugal é mais conhecida por lagarta do tomateiro^[54]. A larva penetra um fruto (fig. 17c e 17d), e quando o perfura, sai deste e ataca os outros frutos da árvore, multiplicando assim os danos. Em condições naturais pode atacar 5 a 10 % dos frutos. Para o melhor combate desta praga deve-se retirar os frutos atacados e manter a humidade do solo. A realização de tratamentos às culturas é normalmente inevitável, dado que o combate é difícil^[38, 50]. Na fig. 17 apresentam-se imagens relativas a todo o ciclo da *Helicoverpa armigera*, desde a ovulação até à forma adulta da lagarta do tomateiro.

a



Ovos de *Helicoverpa armigera*.

b



Larva (em diferentes estágios da vida) de *Helicoverpa armigera*.

Continua

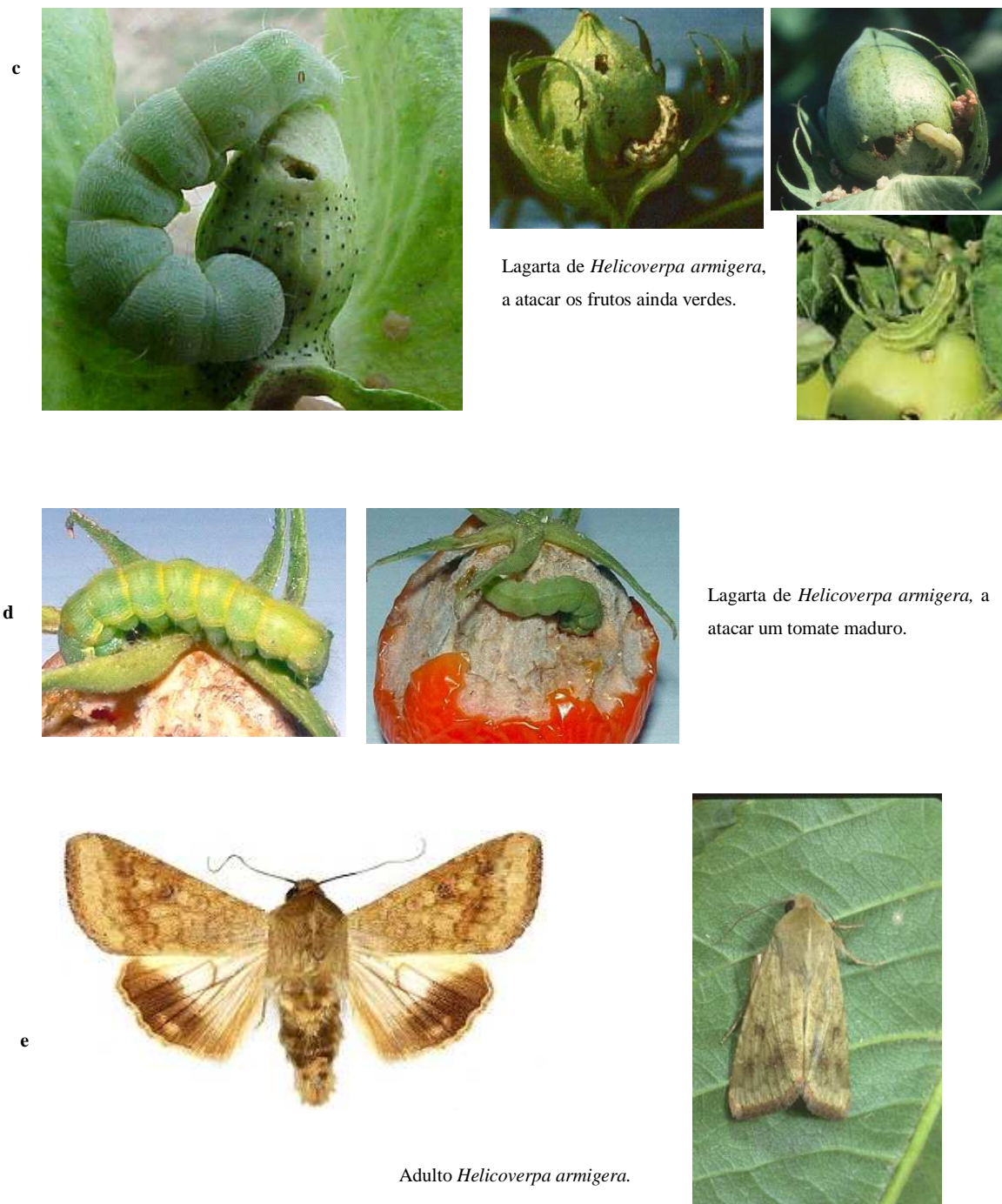


Fig. 17: Diferentes estágios da vida de *Helicoverpa armigera*, desde a ovulação até à forma adulta (extraído de ^[53]).

Os pesticidas aplicados no combate da praga da lagarta do tomateiro são: ciflutrina, imidaclopride, endossulfão, indoxacarbe, cipermetrina, metomil, clorpirifos, deltametrina, triclorfão, alfa-cipermetrina, azinfos-metilo, carbaril^A, beta-ciflutrina, diazinão, esfenvalerato, fosalone, lambda-cialotrin, lufenurão, malatião, metomil e triclorfão^[47].

^A Pesticida usado neste estudo.

1.1.3.1. b₂) Mosca branca

A mosca branca, *Bemisia tabaci*, é um insecto que já foi observado a atacar mais de 500 espécies diferentes de vegetais, pertencentes a 74 famílias botânicas^[55]. O ciclo de vida da mosca branca (fig. 18) compreende quatro fases: o ovo, a ninfa, a pupa e a fase adulta^[56]. As moscas brancas reduzem a qualidade dos frutos, que ficam sujos de melada e posteriormente negros devido à fumagina. Os ovos, as larvas e os adultos podem ser observados na parte inferior das folhas, neste local da planta encontram-se todos os estágios da praga (ovo, ninfa, pupa, adulto)^[55]. A movimentação da mosca branca nas culturas acontece de noite e nas horas mais frescas do dia; o vento é um meio muito importante na disseminação da mosca branca dentro da mesma cultura e entre culturas^[56].

O controlo biológico é feito pelo parasitóide *Encarsia formosa*, com algum sucesso quando a praga não atinge grande desenvolvimento. Quando a praga se encontra em grande desenvolvimento é necessário aplicar insecticidas, procurando variar as famílias químicas^[38].

Os hortícolas mais afectados são: o tomate, o pimento, a beringela, a batata-doce, o pepino e o feijão. É de salientar que a mosca branca transmite de forma persistente o vírus *Tomato yellow leaf curl virus* (TYLCV), agente causal de uma doença que pode ser um factor limitante para a cultura do tomateiro, denominada por frisado amarelo do tomateiro^[38].

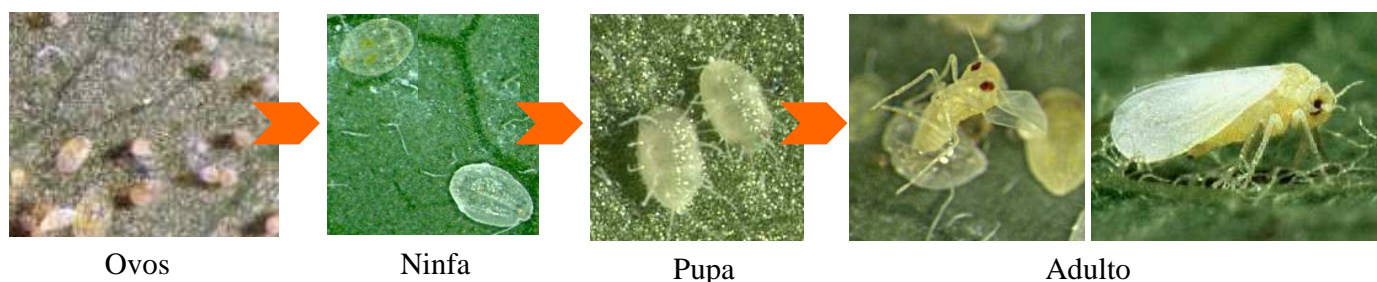


Fig. 18: Ciclo de vida da mosca branca (extraído de ^[55, 56]).

Os pesticidas aplicados no combate da praga da mosca branca são: captana, acefato, dimetoato, metamidofos, triazofos, deltametrina, beta-ciflutrina, esfenvalerato, fenpropratrina, acetamiprida, imidacloprida, tiametoxana, tiacloprida, acetamiprida, alfa-cipermetrina, azadiractina, buprofezina, lambda-cialotrina, pimetrozina e tiametoxame^[47]

1.1.3.1. c) Vírus

Na campanha de 2005, efectuada pela Direcção Geral de Protecção das Culturas (DGPC) foram novamente detectados na cultura do tomateiro de ar livre, focos de infecção com alguma gravidade de dois importantes vírus: o vírus do bronzeamento do tomateiro (*Tomato spotted wilt virus*-TSWV) e o vírus do frisado amarelo do tomateiro (*Tomato yellow leaf curl virus*-TYLCV). No Ribatejo, o concelho de Salvaterra de Magos, foi o mais afectado pela incidência do TSWV enquanto que os focos de TYLCV foram detectados na região de Campo Maior, no Alentejo. A transmissão destes vírus é feita por insectos vectores, sendo o TSWV transmitido com bastante eficiência pela *Frankliniella occidentalis* (estirpe da Califórnia) e o TYLCV pela mosca branca *Bemisia tabaci*^[47]. Pode observar-se através da fig. 19, uma cultura de tomateiro afectada pelos vírus TSWV e uma pelo vírus TYLCV.

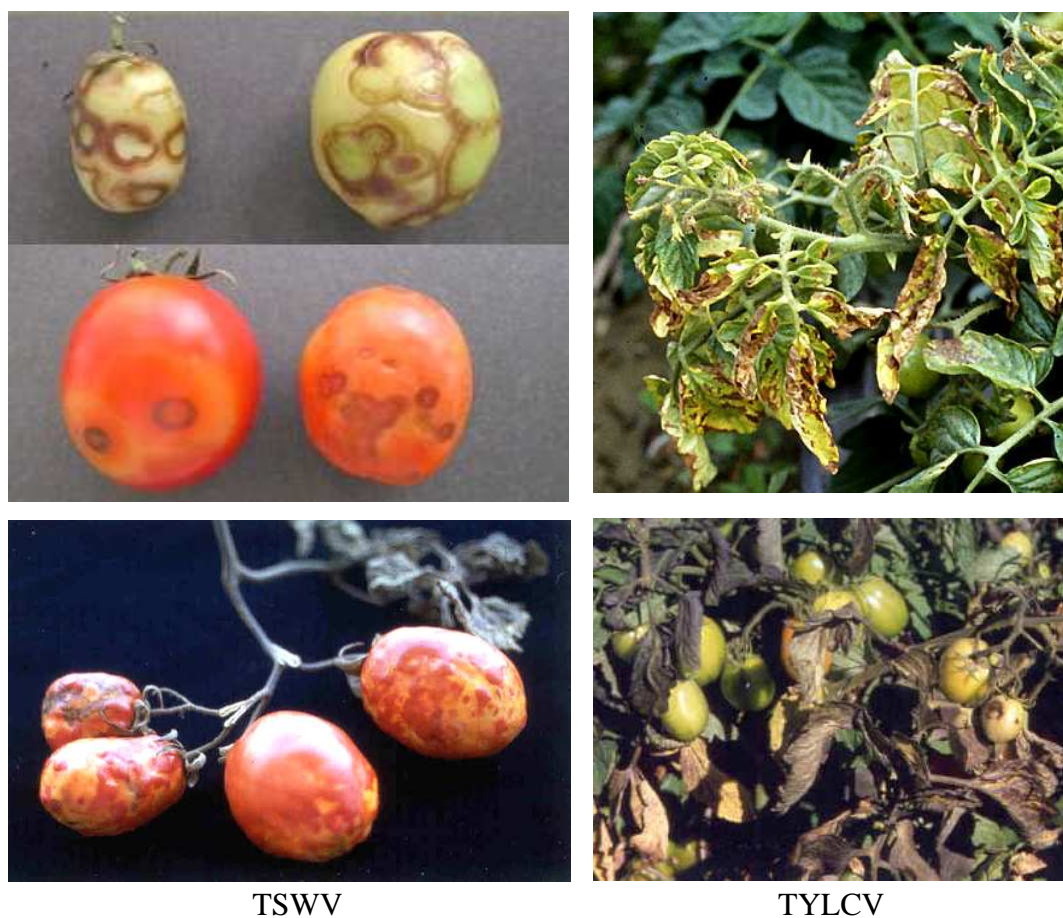


Fig. 19: Cultura de tomate afectada pelo vírus do bronzeamento do tomateiro (TSWV) e o vírus do frisado amarelo do tomateiro (TYLCV) (extraída de ^[47]).

Dada a perigosidade destes vírus, a DGPC alertou que para o ano de 2006 dever-se-iam aplicar as seguintes medidas preventivas, por parte dos agricultores^[47]:

- Utilizar plantas isentas de vírus produzidas em viveiros registados;
- Detectar precocemente os vectores e proceder ao seu combate com produtos fitofarmacêuticos homologados;
- Combater as infestantes de Inverno na parcela e na área circundante;
- Eliminar plantas doentes (para baixar os níveis de inóculo do vírus nas culturas);
- Não efectuar a cultura do tomateiro, batateira ou pimenteiro em terrenos que no ano anterior tenham sido cultivados com solanáceas (batata, tomate ou pimento);
- Nas estufas de produção e viveiros de plantas de tomateiro, pimenteiro, alface e ornamentais garantir a protecção física contra os vectores através da colocação de redes de malha apropriada;
- Nas estufas, proceder à desinfestação no fim de cada cultura e à eliminação das infestantes no seu interior e nas imediações;
- Utilizar sempre que possível variedades resistentes ou tolerantes a estes vírus.

1.2. Caracterização dos pesticidas usados na agricultura

"Cosa vi é che non ste tossico?
Tutte la cose sono tossiche e nessuna non lo é.
Solo la dose fa si che una cosa sia tossica"



Paracelsius (século XVI)

(extraído de ^[7, 57])

A capacidade actual dos países desenvolvidos em produzir e colher grandes quantidades de alimentos em áreas relativamente pequenas tem sido possível graças ao uso de pesticidas^[58]. Os agricultores conseguem manter as suas culturas agrícolas protegidas dos estragos provocados por insectos, ervas daninhas e doenças^[59]. A intensificação da agricultura nas últimas décadas é em parte responsável pela degradação ambiental, com reflexos na poluição do solo, da água e do ar, na erosão do solo e na fragmentação dos habitats. Níveis elevados de apoios aos preços

agrícolas favorecem a utilização intensiva de fertilizantes e pesticidas, a mobilização inadequada dos solos e as práticas de drenagem ou irrigação incorrectas^[2].

1.2.1. Introdução

Na Antiguidade a.c., os povos da China, da Grécia e da Suméria utilizavam alguns sais inorgânicos no combate aos insectos nas suas colheitas. Certas plantas funcionavam perfeitamente como um veneno potente para a maioria dos vertebrados e invertebrados, apesar deles não terem a noção das substâncias activas que as plantas continham^[60]. A primeira estratégia usada para eliminar ervas daninhas, usando para esse efeito cinza e sal, data de 1200 a.c.^[61] e a utilização de enxofre como acaricida e fungicida do ano 1000 a.c.^[62]. Os romanos em 100 a.c. efectuavam o controlo de ratos, ratazanas e insectos com heléboro (erva besteira). Na China, em pleno século X utilizava-se arsénio para o controlo de insectos^[61]. No século XVII, na América do Sul, os índios utilizavam rotenona para paralisar os peixes^[61, 62]. Foram utilizadas em 1860 soluções de cloreto de mercúrio para eliminar minhocas existentes no solo^[61]. A síntese dos primeiros pesticidas ocorreu durante a Segunda Guerra Mundial. Com o fim da Guerra, a utilização militar deixa de ser necessária mas as estruturas laboratoriais e o conhecimento científico da manipulação de substâncias químicas letais foram reaproveitados para outros fins, nomeadamente para o combate aos insectos que causavam perdas na produção agrícola^[63].

O uso "oficial" de pesticidas começou no final do século XIX com a comercialização de alguns sais inorgânicos para o combate aos escaravelhos que afectavam as plantações de batata^[60]. Os pesticidas foram um dos maiores desenvolvimentos tecnológicos do século XX^[64]. A investigação industrial com o objectivo de descobrir ingredientes activos mais selectivos e menos tóxicos para os organismos não-alvo iniciou-se na década de 1930. Surgiram substâncias muito fáceis de sintetizar mas bastantes efectivas. O diclorodifeniltricloroetano (DDT) e o ácido 2,4-diclorofenoxiacético (2,4-D) representam duas das descobertas mais importantes, que permitiram grandes aumentos na produtividade, com grande aceitação por parte dos consumidores^[65]. O DDT foi usado em diferentes continentes para eliminar o mosquito vector da malária (fig. 20) e mais tarde foi utilizado no controle de pragas na agricultura^[66]. No entanto, à semelhança de todos os organoclorados, a eficácia do DDT foi diminuindo ao longo do tempo, obrigando o uso de doses maiores. O DDT acumulou-se em grandes quantidades nos organismos, com consequências nocivas para a sobrevivência de várias espécies selvagens.

Actualmente está proibido em muitos países, embora ainda possa ser usado em casos de extrema emergência sanitária^[66, 67]. De 1964 a 1970, a Organização Mundial de Saúde (OMS) testou cerca de 2.000 compostos para possível uso como insecticidas contra a malária. Mas nenhuma das substâncias testadas foi tão persistente e eficiente como o DDT. Por exemplo, o malatión e o carbaril^B foram utilizados como substitutos, mas revelaram-se muito mais tóxicos que o DDT^[67].

A relação entre a indústria química, o sector agrícola e a sociedade em geral foi bastante harmoniosa ao longo dos tempos, levando a melhorias notáveis registadas ao nível da produção agrícola e da qualidade de vida das populações^[65]. No entanto, o uso dos pesticidas conjuntamente com as emissões industriais libertadas durante a sua produção originam resíduos que devido às suas propriedades químicas e aos seus produtos de degradação aparecem na comida, no ar, na água e no solo^[68].

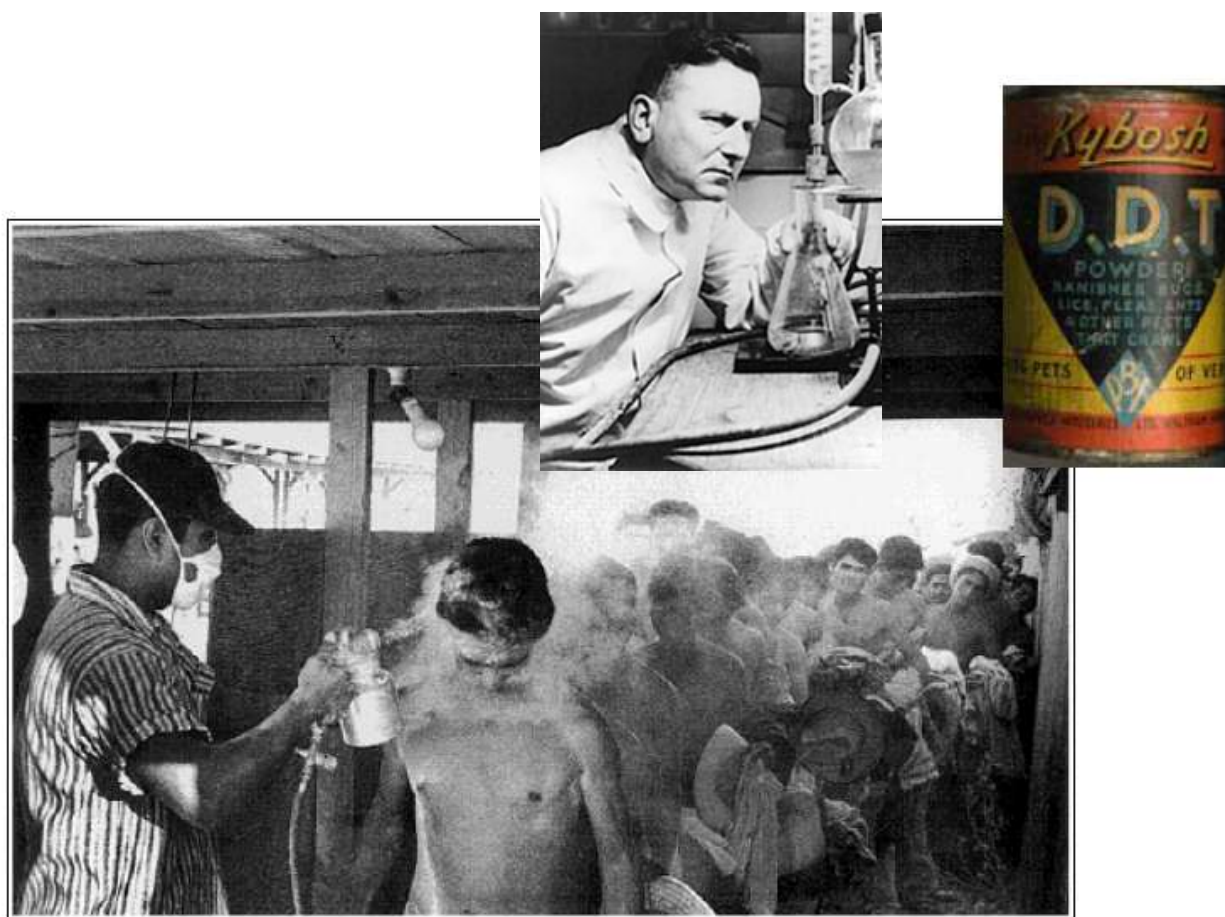


Fig. 20: Uso do pesticida DDT nas pessoas para prevenir a epidemia da Malária (extraído de ^[69]).

^B Pesticida usado neste estudo.

1.2.2. Modos de classificação e principais famílias químicas de pesticidas

As culturas são susceptíveis a inúmeras espécies diferentes de pestes^[70]. Estudos de fitossanidade descreveram cerca de 80.000 a 100.000 doenças causadas por vírus, bactérias, fungos, algas e outros parasitas^[71].

Os pesticidas são compostos ou misturas de compostos destinados a prevenir, repelir, mitigar quaisquer insectos, roedores, nematóides, fungos, ervas daninhas, ou outra forma de vida denominada como "peste"^[72]. Todos os pesticidas são toxinas, isto é, podem matar ou prejudicar os organismos. No entanto, nem todos os pesticidas são poluentes. Na realidade, um pesticida só se torna poluente se aparecer em locais ou com concentrações em que não é desejado, quer seja em águas subterrâneas, águas superficiais, solos, ar, acumulados na cadeia alimentar ou como resíduo num alimento^[73].

Resíduo de pesticida é toda a substância presente nos alimentos ou nas rações para animais, resultante do uso de pesticidas, incluindo qualquer derivado de um pesticida, tal como os produtos de conversão e reacção, produtos de degradação e impurezas, considerados de significância toxicológica^[74].

Contaminante é a substância adicionada não intencionalmente ao alimento, resultante da produção (incluindo a produção de culturas, produção animal e medicamentos veterinários), do processamento, da preparação, do tratamento, da embalagem, do transporte, bem como resultado da contaminação ambiental^[74].

Todos os pesticidas químicos apresentam em comum a propriedade de bloquear processos metabólicos vitais nos organismos para os quais são tóxicos. Os pesticidas podem ser classificados de acordo com: o tipo de organismo alvo, o modo de acção, a persistência, a duração do efeito do tratamento, a toxicidade, o tipo de risco envolvido, a origem, as famílias químicas dos compostos, etc.^[2].

A maneira mais fácil de classificar os pesticidas é separá-los consoante o tipo de organismos que atacam. Os pesticidas podem ser agrupados em: acaricidas (carraças, aranhas, acarinos), algicidas (algas), antimicrobianos (micróbios), avicidas (pássaros), bactericidas (bactérias), fungicidas (fungos), herbicidas (plantas, ervas daninhas), insecticidas (insectos), larvicidas (larvas de insectos), moluscicidas (caracóis e lesmas), nematicidas (nematóides), piscicidas (peixes) e raticidas (roedores)^[2].

Os herbicidas podem ser: selectivos, só destruindo um tipo de planta ou não selectivos, atacando toda a vegetação e devem por isso, ser cuidadosamente aplicados para evitar a destruição das culturas em causa^[59]. A classificação dos herbicidas pode ser efectuada de acordo

com o modo de acção, nomeadamente: herbicidas de contacto, eliminam a parte da planta exposta ao herbicida e herbicidas sistémico, são absorvidos pela planta através das raízes, caule ou folhas, circulam pelo seu sistema vascular e causam a sua morte^[70]. A aplicação nos mesmos solos, de herbicidas com o mesmo modo de acção, ano após ano, para além de provocar desequilíbrios ambientais graves, contaminação no meio ambiente (solos, águas superficiais e subterrâneas) e fenómenos de fitotoxicidade, tem também conduzido ao aparecimento de um elevado número de espécies com resistência adquirida a alguns destes produtos fitofarmacêuticos, com consequências negativas para os agricultores ao nível do aumento dos custos de produção nas áreas afectadas por este fenómeno. Em Portugal, a resistência adquirida aos herbicidas foi confirmada, pela primeira vez em 1995, na cultura de arroz, tendo sido identificadas populações de *Alisma plantago-aquatica* L. resistentes ao herbicida bensulfurão-metilo da família das sulfonilureias. Actualmente este problema afecta todas as regiões orizícolas nacionais, embora com maior incidência na bacia hidrográfica do rio Sorraia. Tendo em consideração o sistema de avaliação de risco de resistência elaborado pelo *Herbicide Resistance Action Committee* e dadas as práticas agrícolas seguidas, em Portugal, em algumas das culturas, a DGPC admite que o problema da resistência adquirida afecte um leque mais vasto de culturas, sobretudo, no milho, no arroz, nas batatas e nos frutos uvas e tomates^[75]. Na maioria dos Países Europeus, a resistência aos herbicidas, tem vindo a aumentar, tornando-se, mais tarde, impossíveis de erradicar^[76].

Como os insecticidas são frequentemente perigosos para outros animais (incluindo o Homem), aqueles com menor toxicidade e menor persistência no meio ambiente são os preferidos^[70]. Existem insecticidas de contacto, que actuam por contacto directo com o insecto matando-o, e insecticidas sistémicos, que usam um organismo hospedeiro para atingir o alvo, ou seja, o insecticida é absorvido pela planta, passa para o seu sistema vascular e, quando o insecto se alimenta da planta, morre. O grupo dos insecticidas que tem efeitos melhor documentados divide-se em quatro subgrupos principais: os organoclorados, os organofosforados, os carbamatos e os piretróides^[70]. No entanto existem várias plantas que funcionam com insecticidas naturais. As flores, os rebentos, as folhas e as raízes de algumas plantas são técnicas eficazes no controlo de insectos e não envolvem o uso e a adição de produtos fitofarmacêuticos no meio ambiente. Os malmequeres, os crisântemos, o rosmaninho, a salva, a hortelã-pimenta, as folhas da botelheira, as folhas do morangueiro são alguns exemplos de plantas mais utilizadas pelos agricultores como repelentes de insectos^[77]. O recurso à luta biológica em culturas de citrinos, em Portugal ocorreu, em 1896, a introdução da Joaninha, *Rodolia cardinalis*, para combater a Icéria, *Icerya purchasi*, uma cochonilha dos citrinos^[78].

Quanto à origem, os pesticidas podem ser: botânicos, compostos obtidos a partir de plantas; antibióticos, compostos obtidos a partir dos produtos de fermentação do

Streptomyces avermitilis e sintéticos, compostos fabricados pelo homem com propriedades pesticidas^[71].

Com o objectivo de distinguir o grau de toxicidade, os pesticidas são classificados em quatro classes toxicológicas. A classificação toxicológica é baseada na identificação do componente de risco referente a uma substância química. A toxicidade aguda oral, dérmica (DL₅₀) e inalatória (CL₅₀) para ratos em relação aos pesticidas foram os princípios fundamentais da classificação. Quanto ao risco envolvido no manuseamento dos pesticidas, a OMS agrupa a classificação em quatro classes, nomeadamente, em extremamente perigoso (classe Ia), muito perigoso (classe Ib), moderadamente perigoso (classe II) e ligeiramente perigoso (classe III)^[79]. Esta organização ressalta o facto da classificação toxicológica de uma substância ou formulação não depender de todos os dados toxicológicos se situarem na mesma classe; o produto será classificado segundo o dado mais agravante^[80].

Quimicamente, os pesticidas são classificados como compostos inorgânicos ou orgânicos. Os compostos inorgânicos, eram utilizados antigamente pelos povos gregos, romanos e chineses (arsénio e enxofre), no entanto, o uso moderno dos insecticidas inorgânicos data de 1867, quando um produto chamado verde-Paris foi preparado comercialmente e usado contra um grande número de pragas. A acumulação nos tecidos orgânicos e a elevada persistência são duas das mais importantes desvantagens destes pesticidas. Os pesticidas inorgânicos foram muito utilizados no passado, mas actualmente não representam 10 % do total de pesticidas em uso. Os compostos que possuem na sua fórmula a presença de um átomo de carbono, são designados de compostos orgânicos; constituem o grupo de maior importância e são divididos em sintéticos (compostos produzidos pelo homem) e naturais. Os compostos orgânicos naturais, utilizados muito na antiguidade, são de baixa toxicidade e baixa permanência no ambiente (como por exemplo: o piretro e a rotenona). A descoberta dos compostos orgânicos sintéticos possibilitou o aparecimento de uma vasta gama de produtos orgânicos classificados como organoclorados, clorofosforados, organofosforados, carbamatos, piretróides, triazinas e cloronitrofenol, etc.^[79].

Devido aos riscos inerentes dos pesticidas com percussões na saúde humana e animal e na degradação do meio ambiente, há necessidade de uma monitorização dos níveis de resíduos de pesticidas, nas diversas matrizes ambientais. Os pesticidas da família dos carbamatos e da família das ureias são pesticidas hoje em dia, largamente utilizados pelos agricultores, podem ser utilizados como herbicidas, insecticidas, nematocidas, acaricidas e moluscicidas. Apareceram como substitutos dos pesticidas organoclorados, muito mais tóxicos^[81].

Carbamatos

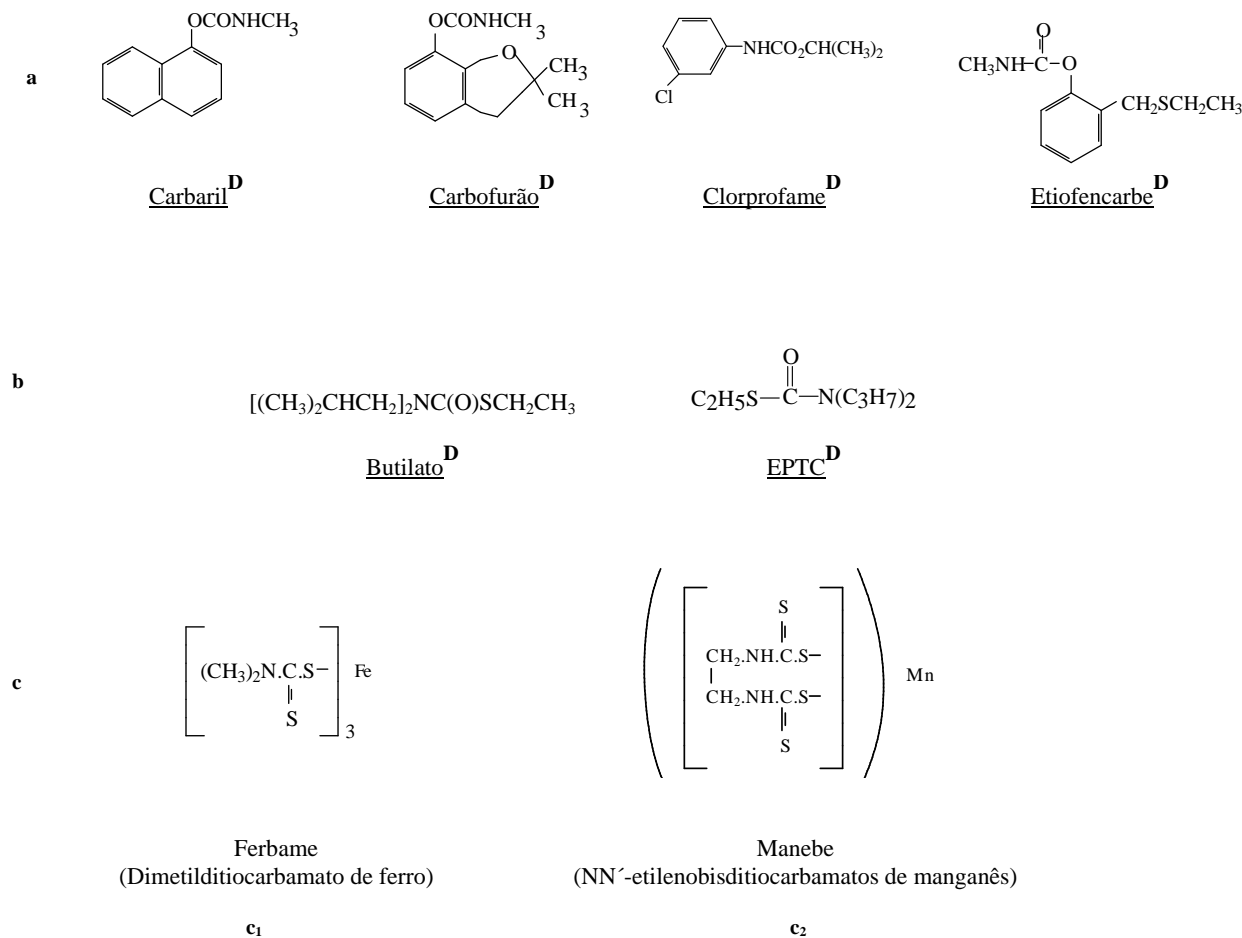
Os carbamatos são uma das maiores classes de pesticidas sintéticos, comercializados desde 1950 e são utilizados em enorme escala^[82, 83]. São substâncias orgânicas, derivadas de ácido carbâmico, com reconhecidas propriedades herbicidas^[70], mas também insecticidas, fungicidas, nematocidas, acaricidas e moluscicidas^[81, 82, 84, 85], podem também ser utilizados na medicina no combate a doenças, nomeadamente: a *Miastenia Gravis*, a Doença de Alzheimer, a Retenção Urinária, a Descurarização e a Esquistossomose^[86].

O uso de carbamatos no controlo de pestes tem aumentado progressivamente nos recentes anos conjuntamente com os insecticidas organofosforados como alternativa aos pesticidas organoclorados^[4, 84, 87, 88] devido ao espectro de actividade, ao desaparecimento rápido e a baixa toxicidade para os mamíferos^[81, 88-93].

A estrutura original dos carbamatos deriva de um composto natural, a eserina. Os carbamatos compreendem três subgrupos distintos: os *N*-metilcarbamatos, os tiocarbamatos e os ditiocarbamatos^[65]. Entre os *N*-metilcarbamatos incluem-se os *N*-substituídos ou os metil-carbamatos (carbaril^C); os carbamatos fenil-substituídos (propoxur) e os carbamatos cíclicos (carbofurão^C). Os *N*-metilcarbamatos, são utilizados como insecticidas e nematocidas^[94]. A diferença entre os pesticidas *N*-metilcarbamatos e tiocarbamatos reside na substituição do grupo CO por CS. Os pesticidas ditiocarbamatos podem ser divididos em dois grupos: os dimetilditiocarbamatos, que compreende os pesticidas: ferbame, tirame e zirame (passíveis de reagirem com os nitritos para formarem nitrosaminas) e os etilenobisditiocarbamatos, que incluem os pesticidas: zinebe, propinebe, manebe e mancozebe. A diferença química mais importante entre os grupos dos ditiocarbamatos, reside no facto dos produtos pertencentes ao dimetilditiocarbamatos não terem um átomo de hidrogénio ligado directamente ao átomo de azoto, enquanto que nos compostos etilenobisditiocarbamatos o átomo de hidrogénio está ligado ao átomo de azoto. Os ditiocarbamatos são produtos da reacção entre aminas primárias ou secundárias e sulfureto de carbono (CS₂) em meio básico^[95]. São pesticidas usados na protecção de fungos que atacam as diversas culturas. A determinação mais frequente dos pesticidas ditiocarbamatos envolve a libertação do CS₂ pela hidrólise directa da amostra em meio ácido na presença do cloreto estanoso^[95-97].

Na fig. 21 apresentam-se algumas fórmulas de estruturas de pesticidas: *N*-metilcarbamatos, tiocarbamatos e ditiocarbamatos.

^C Pesticida usado neste estudo.



Legenda: **a)** *N*-metilcarbamatos, **b)** Tiocarbamatos, **c)** Ditiocarbamatos, **c₁)** Dimetilditiocarbamatos e **c₂)** Etilenobisditiocarbamatos.

Fig. 21: Estrutura química de pesticidas da família dos carbamatos^[98].

Os carbamatos correctamente usados na agricultura são utilizados para combater um elevado número de pestes numa grande variedade de produtos, no entanto os seus resíduos podem ser encontrados em vegetais e frutos^[87, 99, 100]. A maior parte destes pesticidas tem baixa volatilidade e baixa estabilidade^[92]. Os carbamatos degradam-se quimicamente (hidrólise), fisicamente (temperatura e luz) e biologicamente (degradação microbológica). No solo não se verificam problemas de persistência, no entanto de acordo com a capacidade de retenção no solo, esses compostos permanecem por vários períodos^[101]. A maioria dos carbamatos tem pontos de ebulição elevados e baixo valor de pressão de vapor. São normalmente distribuídos em meios aquosos no ambiente devido à elevada solubilidade em água. Estudos efectuados demonstraram que os carbamatos e os seus produtos de degradação são potenciais contaminantes no ambiente, nos alimentos e podem passar facilmente através dos ecossistemas

^D Pesticida usado neste estudo.

passando do solo para a água subterrânea^[82]. Os rios, os lagos, os mares, tornam-se assim num reservatório para todos os possíveis pesticidas carbamatos^[102].

Os carbamatos não só actuam como inibidores de insectos, inibindo a acetilcolinesterase, mas também actuam nos transmissores neurais de outros organismos, incluindo os humanos. Estes pesticidas representam assim um potencial risco para a saúde ambiental e humana^[88, 89, 91, 101] e, recentemente, descobriu-se serem potenciais desreguladores endócrinos^[81]. Por essas razões, os pesticidas da família dos carbamatos são uma das prioridades na lista da Agência de Protecção Ambiental (EPA), sendo a sua determinação em diversas matrizes de extrema importância^[88]. Os carbamatos como herbicidas actuam pela inibição da mitose e pela inibição da síntese dos lípidos^[98]. Na Europa, o nível de resíduos de pesticidas em vegetais e alimentos para os animais é definido de acordo com o critério proposto pela CE com a Directiva 97/41/EC de 1997^[89]. Para garantir a segurança alimentar a organização internacional regula o nível máximo de resíduos nas colheitas podendo variar de 0,02 a 7 mg/kg dependendo do pesticida^[100].

A inibição de acetilcolinesterase pelos carbamatos é reversível, o que torna os sintomas de intoxicação menos graves e de menor duração do que para os pesticidas organofosforados. Os insecticidas carbamatos são absorvidos pelo organismo, pelas vias oral, respiratória e cutânea^[4]. Os carbamatos são pesticidas persistentes e têm efeitos toxicológicos no ambiente. Em relação aos pesticidas organoclorados e organofosforados, os carbamatos são considerados de toxicidade aguda média, sendo degradados rapidamente e não se acumulam nos tecidos gordurosos^[103], no entanto os seus efeitos são acumulativos^[104].

A tendência de decomposição térmica em metilisocianato e fenol, torna a maior parte dos carbamatos difíceis de serem extraídos^[105]. Os carbamatos e os produtos de degradação são polares e termolábeis^[106] e quando aquecidos têm a tendência a decompor-se em fenóis e aminas^[107]. Os pesticidas carbofurão^E, carbaril^E são considerados importantes compostos da família dos carbamatos mas são um potencial risco para os consumidores pois surgem resíduos nos vegetais e frutos^[85].

Ureias

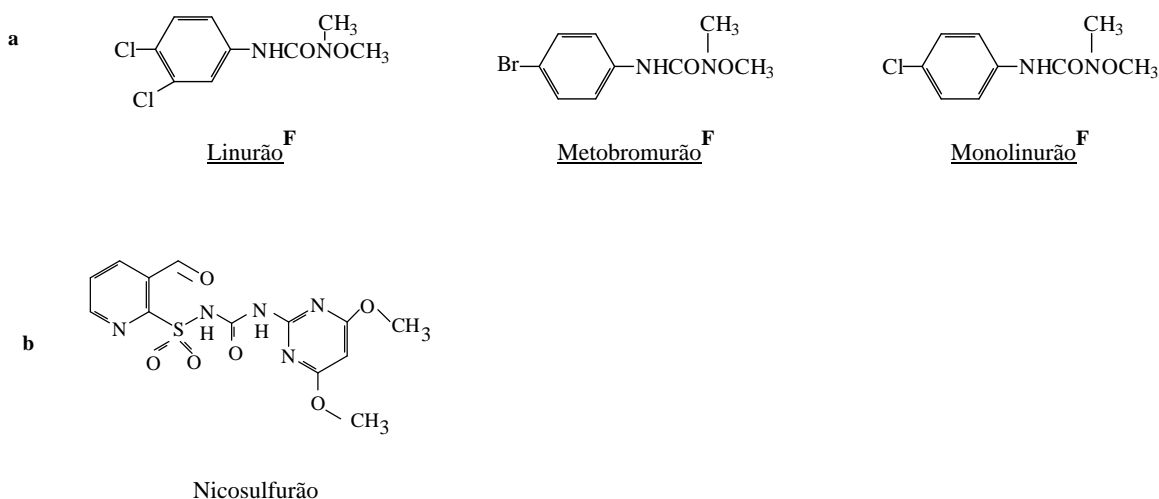
As ureias são diamidas que derivam formalmente do ácido carbónico. A síntese da ureia a partir do isocianato de amónio, foi efectuada em 1828 pelo químico alemão Wohler (1800-1882)^[108].

^E Pesticida usado neste estudo.

As ureias constituem um importante grupo de pesticidas abrangendo herbicidas e insecticidas e começaram a ser comercializadas na década de 1950. Devido à sua rápida degradação no solo e água, a sua comercialização e uso na agricultura tem aumentado ao longo dos anos^[109]. Os herbicidas ureias actuam por intervenção na fotossíntese causando a morte das plantas e por isso apresentam baixa toxicidade para os mamíferos. As ureias como insecticidas actuam na hormona que regula a síntese da quitina, o bursicon, e como consequência perturbam a estrutura e a colocação da cutícula, impossibilitando a renovação da cutícula do insecto e consequentemente a formação de novo exosqueleto, o que conduz à morte do insecto^[98].

Em elevadas concentrações, as ureias, são úteis na destruição de todas as pestes. Em baixas concentrações são utilizadas como controlo selectivo numa vasta gama de culturas^[110]. As fenilureias são solúveis em água, tendo grande capacidade de migração para o solo e de entrar na cadeia alimentar, sendo degradadas e metabolizadas pelos mamíferos^[111]. A natureza polar das ureias explica o potencial risco dos compostos como poluentes na água^[112]. Os resíduos de fenilureias aparecem nos alimentos nos quais os pesticidas foram utilizados^[113]. As fenilureias e as sulfonilureias são uma classe de herbicidas ureias muito usadas no tratamento pré e pós-emergência^[110, 112-114]. As fenilureias são herbicidas neutros usados como herbicidas selectivos e não selectivos na agricultura^[114] enquanto que as sulfonilureias são compostos ácidos^[112].

Na fig. 22 apresentam-se algumas fórmulas de estruturas de pesticidas fenilureias e sulfonilureias.



Legenda: a) Fenilureias e **b)** Sulfonilureias.

Fig. 22: Estrutura química de pesticidas da família das ureias^[98].

^F Pesticida usado neste estudo.

1.2.3. Consumo de pesticidas em Portugal

Anualmente, a DGPC publica os volumes relativos às vendas dos produtos fitofarmacêuticos ocorridas em cada ano. À semelhança do que tem vindo a ser feito em anos anteriores, no final do ano de 2005 foram divulgados os quantitativos de vendas relativos ao ano de 2004. Estes volumes são comunicados à DGPC pelas empresas que comercializam produtos fitofarmacêuticos (que pertencem à Associação Nacional da Indústria para a Protecção das Plantas-ANIPLA e pelas restantes empresas não associadas da ANIPLA), ao abrigo do Artigo 26º do Decreto-Lei n.º 94/98 de 15 de Abril^[115]. Os volumes de vendas dos produtos fitofarmacêuticos são apresentados, por substância activa e por grupo químico, agrupados segundo a sua função, de acordo com o critério da classificação recomendada pelo EUROSTAT (Gabinete de Estatística da União Europeia), tendo em vista a harmonização de dados a nível da UE^[115, 116].

No final de 2004, existiam em Portugal 800 produtos com venda autorizada correspondentes a 261 substâncias activas^[115]. Apresenta-se na tab. 2, o quantitativo de vendas de produtos fitofarmacêuticos expresso em quilograma de substância activa por tipo de função.

Tab. 2: Quantidades de produtos fitofarmacêuticos vendidos em 2004 por tipo de função da substância activa. Dados publicados no relatório de vendas de produtos fitofarmacêuticos em Portugal de 2004 pela Direcção Geral de Protecção de Culturas (extraído de ^[115]).

| Função | Quantitativo vendido (kg) |
|----------------------------|---------------------------|
| Fungicidas | 12.458.754 |
| Herbicidas | 2.104.908 |
| Insecticidas e acaricidas | 408.996 |
| Reguladores de crescimento | 18.455 |
| Rodenticidas | 24 |
| Óleo mineral | 599.801 |
| Fumigantes de solo | 1.325.376 |
| Outros | 25.615 |
| Total | 16.941.929 |

A venda de produtos fitofarmacêuticos, em 2004, registou um ligeiro decréscimo (0,6 %) relativamente a 2003. Os fungicidas, os herbicidas e os insecticidas representaram respectivamente 73,5 %, 12,4 % e 2,40 % do total dos produtos fitofarmacêuticos vendidos^[115]. Na fig. 23 representa-se graficamente a repartição percentual por função dos principais grupos de produtos fitofarmacêuticos.

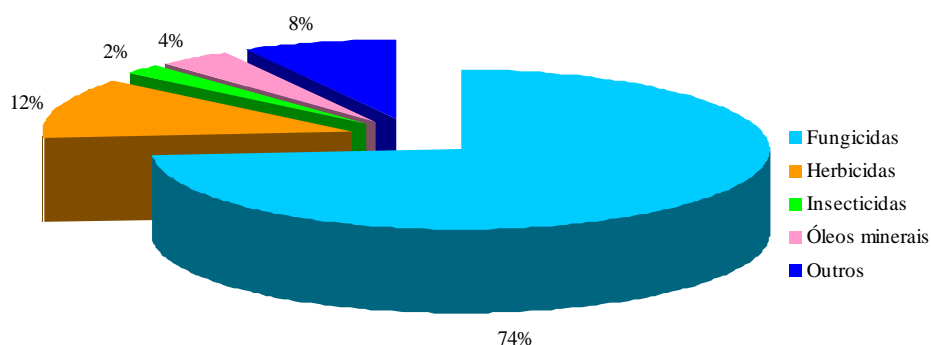


Fig. 23: Repartição percentual por função dos produtos fitofarmacêuticos vendidos em 2004 (extraído de ^[115]).

No anexo II (Pág. 196 à 203), apresentam-se os quantitativos de: fungicidas, herbicidas, insecticidas, acaricidas, reguladores de crescimento de plantas e outros produtos fitofarmacêuticos vendidos em Portugal em 2004, repartidos por grupos químicos ^[115].

A venda de pesticidas tem vindo a aumentar consideravelmente. Desde 1990 aumentou cerca de 87 % (fig. 24) o que poderá ter repercussões negativas no ambiente, designadamente em termos de contaminação dos solos e dos recursos hídricos e, conseqüentemente, na saúde humana. No entanto, um aumento (ou redução) dos volumes totais de pesticidas vendidos/usados não equivale necessariamente a um aumento (ou redução) dos riscos associados à sua utilização, pois um aumento do volume pode dever-se a uma maior utilização de pesticidas menos tóxicos, menos persistentes e mais específicos^[2].

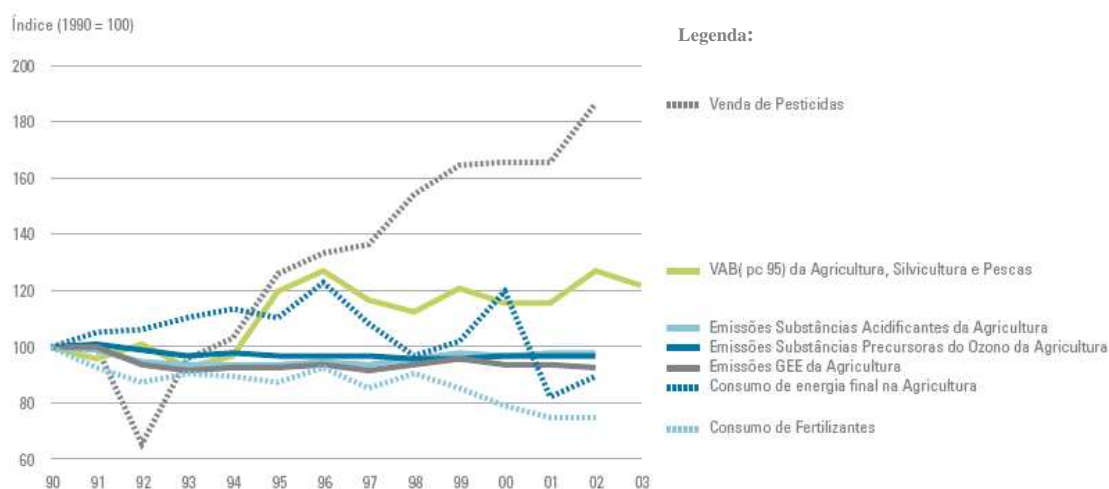


Fig. 24: Eco-eficiência do sector agrícola de 1990 a 2003 em Portugal (extraído de ^[2]).

O aumento da venda dos pesticidas deve-se, sobretudo, ao acréscimo na venda de fungicidas que, face a 1991, aumentou aproximadamente para o dobro. Na fig. 25, pode-se observar a evolução das vendas dos principais pesticidas, ao longo dos últimos anos. O grupo dos fungicidas é aquele que absorve a maior parte das vendas, seguindo-se os herbicidas, os insecticidas e os nematodocidas que, desde 1996, têm vindo a assumir maior importância^[2].

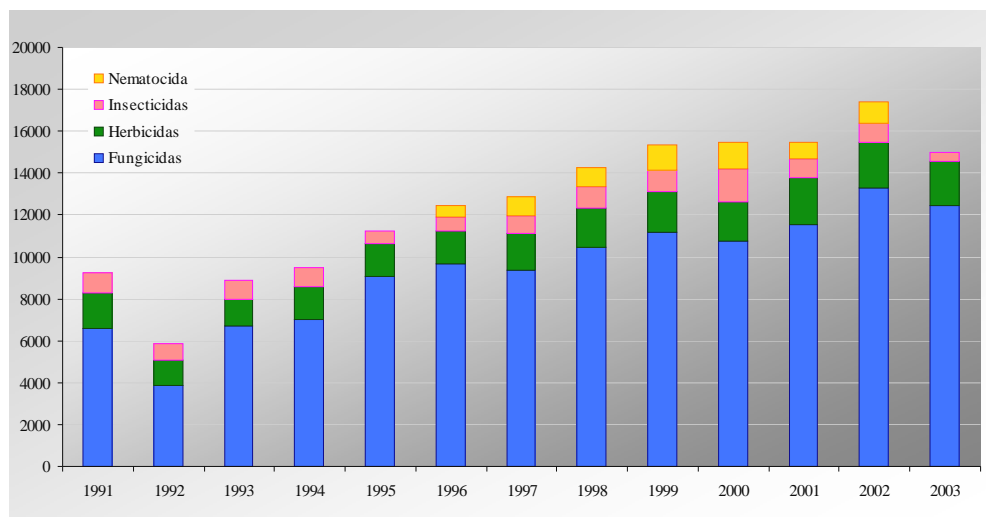
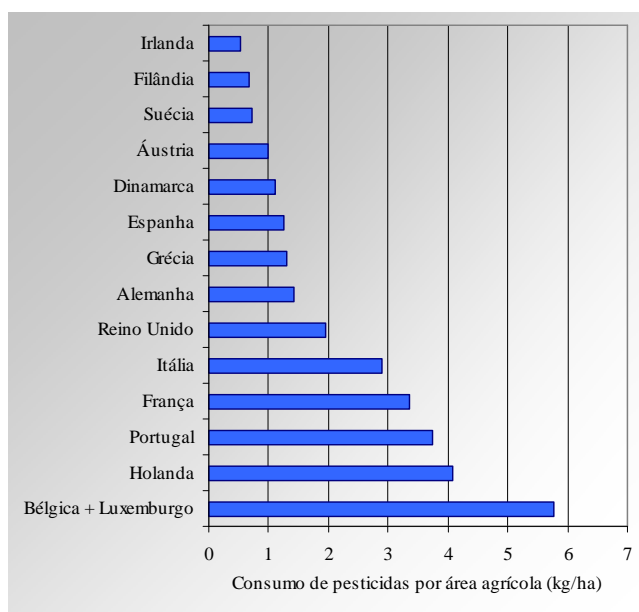


Fig. 25: Venda dos principais produtos fitofarmacêuticos em Portugal Continental desde 1991 (extraído de ^[2]).

Ao comparar com os restantes países da UE (fig. 26), verifica-se que em Portugal a utilização de pesticidas por área agrícola (3,74 kg/ha) é superior aos valores médios europeus (2,10 kg/ha), sendo apenas ultrapassado pela Holanda, Bélgica e Luxemburgo^[2].



A nível nacional, os produtos fitofarmacêuticos são utilizados maioritariamente nas culturas hortícolas, na vinha e nos pomares, pelo que os valores observados, na fig. 26, são superiores aos dos países onde predomina a cultura cerealífera, mas inferiores aos países que praticam horticultura em estufas^[2].

Fig. 26: Consumo dos principais pesticidas na UE por área agrícola, em 2001 (extraído de ^[2]).

O crescimento da quantidade de agroquímicos colocados no mercado pode ser constatado através do *Hanna's Handbook of Agricultural Chemicals* que, na sua publicação de 1952, listava 500 produtos e na publicação de 1999 o número de pesticida chega a 20.000^[72].

A adopção de boas práticas agrícolas e a evolução tecnológica têm conduzido a uma melhoria das condições de aplicação destes produtos (adopção de produtos de acção específica em detrimento de produtos de largo espectro e opção por produtos biodegradáveis, entre outros) e, consequentemente, à diminuição dos riscos associados^[2].

1.2.4. Impacto ambiental derivado da aplicação de pesticidas na agricultura

O potencial efeito negativo dos pesticidas, está a causar uma preocupação crescente a nível mundial, apesar dos incontestáveis benefícios inerentes à sua utilização. Os pesticidas são altamente tóxicos e podem ser perigosos quando mal aplicados^[70]. Os investigadores estimam que apenas uma pequena percentagem do pesticida aplicado atinja efectivamente o seu alvo, o que significa que elevadas quantidades destes poluentes são introduzidos no meio ambiente^[68].

Os pesticidas e os seus produtos de degradação devem ser monitorizados, não só no alvo e no local de aplicação, como também nas áreas mais ou menos próximas do local onde foi efectuada a aplicação^[112, 117]. Torna-se necessária a monitorização da qualidade dos alimentos para evitar os riscos para os consumidores e também regular o comércio internacional^[98].

Antes de um pesticida ser oficialmente registado, é testado quanto ao potencial de causar cancro, malformações congénitas, alterações hormonais e lesões do sistema nervoso, além dos possíveis efeitos sobre bebés, crianças, grávidas, mulheres a amamentar, idosos e trabalhadores agrícolas. À luz dos conhecimentos actuais, os pesticidas apresentam hoje um equilíbrio aceitável entre os benefícios e os riscos^[7]. Estudos recentes concluíram que o nível da exposição aos pesticidas tem vindo a diminuir nos últimos anos. Os pesticidas mais recentes têm tendência para se decompor no ambiente, muitas vezes antes das colheitas dos produtos alimentares. Além disso, soluções agrícolas podem vir a reduzir ainda mais a utilização de pesticidas. São exemplos destas novas técnicas o uso apropriado de armadilhas para os insectos, as culturas geneticamente modificadas, a rotação de culturas, os predadores naturais de insectos mais específicos e potentes quando surge a necessidade de dominar as pragas e por fim, o reduzido mas crescente mercado dos alimentos biológicos faz também diminuir o uso de pesticidas sintéticos^[7].

Em 1996, a lei de Protecção da Qualidade Alimentar dos Estados Unidos da América (EUA) determinou a regulamentação dos pesticidas de modo a garantir a segurança dos bebés e crianças. Até 2005 já tinham sido avaliadas cerca de um terço das mais de 9.000 normas sobre os pesticidas, o processo ficará completo em 2006^[7]. A utilização de produtos fitofarmacêuticos está regulamentada e a sua aplicação deve ser efectuada de acordo com as boas práticas agrícolas, respeitando as condições indicadas nos respectivos rótulos. Em Portugal, a entidade oficial responsável pela aprovação de colocação no mercado e utilização dos Produtos fitofarmacêuticos é a DGPC^[8]. O desenvolvimento de novas substâncias activas e a regulamentação da sua utilização é, actualmente, um problema multidisciplinar, envolvendo áreas científicas tão diversas quanto a química orgânica, a química analítica, a bioquímica e a ecotoxicologia^[65]. A OMS estima que, no Mundo, mais de 500 milhões de pessoas são expostas aos pesticidas pelo trabalho agrícola. Destas exposições a OMS tem registo de 3 milhões de intoxicações severas e anualmente ocorrem 1 milhão de casos de intoxicações agudas não intencionais com 20.000 mortes^[118].

Os pesticidas são o principal poluente da produção agrícola moderna. Apesar dos grandes desenvolvimentos conseguidos com a utilização de pesticidas, o seu uso deve ser ponderado tendo em atenção os efeitos adversos causados pela sua utilização, tais como: a infestação secundária, a resistência, a degradação dos pesticidas, a toxicidade nos homens e nos animais, a contaminação de águas subterrâneas, a contaminação de águas superficiais e a contaminação alimentar^[70]. Estes produtos podem acumular-se no solo, lixiviar para as águas subterrâneas, ser arrastados pelo solo em erosão para as águas superficiais e evaporar-se para a atmosfera, a partir da qual pode ocorrer nova deposição no solo. São igualmente susceptíveis de afectar a biodiversidade do solo penetrando na cadeia alimentar e afectar negativamente a saúde humana^[2]. A distribuição do pesticida pelos vários subsistemas depende das características geomorfológicas do terreno, das condições atmosféricas, das práticas de aplicação e das características físico-químicas dos pesticidas^[65]. Na fig. 27, representa-se esquematicamente os possíveis destinos dos pesticidas.

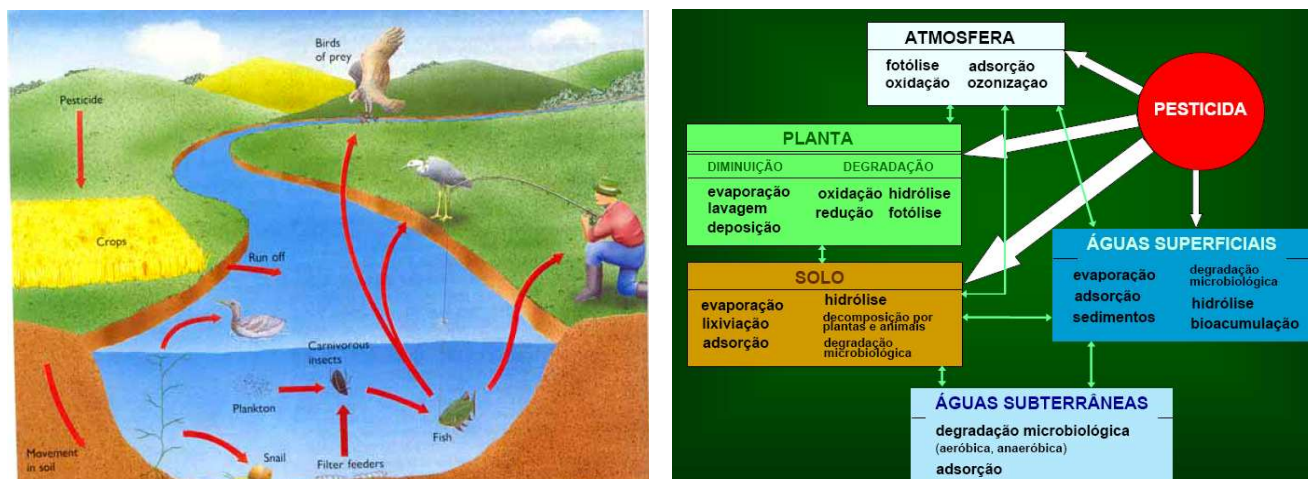


Fig. 27: Transferência dos pesticidas no meio ambiente (extraído de [62, 64]).

A partir do momento da aplicação, os resíduos serão detectados no produto alimentar durante um determinado intervalo de tempo. A concentração observada dependerá, por um lado, de factores relacionados com o tratamento ou com a exposição e, por outro, da velocidade de dissipação do composto no alvo. Um dos fenómenos que contribui indirectamente para a redução da concentração é a diluição por crescimento do fruto. Na UE, estima-se que possam ser encontrados resíduos de pesticidas de cerca de 350 substâncias activas em produtos de origem vegetal^[65].

No solo, a velocidade de degradação de um pesticida é influenciada pelas características químicas do solo, como o teor natural de matéria orgânica, o pH e o estado nutricional, sendo também dependente das condições climáticas que controlam a sua temperatura e humidade. Diferentes velocidades de degradação podem ser observadas em diferentes locais do mesmo solo, devido à variabilidade espacial das suas propriedades. Por outro lado, o solo condiciona indirectamente a degradação do pesticida ao afectar a fracção de composto disponível para degradação e directamente ao afectar o próprio processo de degradação. A biomassa e a sua actividade são normalmente mais elevadas em solos com teores orgânicos mais acentuados, o que pode favorecer uma degradação mais rápida^[65].

1.2.5. Características físico-químicas dos pesticidas englobados neste estudo

Este trabalho engloba o estudo dos seguintes pesticidas: butilato, carbaril, carbofurão, clorprofame, EPTC, etiofencarbe, linurão, metobromurão e monolinurão. Estes pesticidas são

utilizados em algumas culturas agrícolas de maior produtividade em Portugal. Apresenta-se um resumo na tab. 3 das características mais relevantes que diferenciam os pesticidas das duas famílias em estudo.

Na tab. 4 apresentam-se os nove pesticidas alvos do estudo deste trabalho, as respectivas estruturas, a família química nos quais se encontram integrados e algumas das suas propriedades físico-químicas.

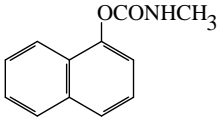
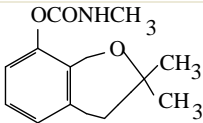
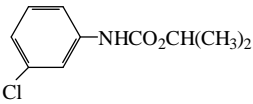
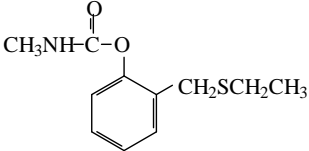
O carbofurão e o carbaril são dois dos pesticidas da família dos carbamatos que são mais utilizados e aplicados a uma vasta gama de produtos agrícolas. O butilato, o EPTC, o etiofencarbe, o metobromurão e o monolinurão são substâncias activas não incluídas na lista Positiva Comunitária (LPC). O linurão continua a pertencer à Lista Positiva Comunitária (LPC) publicada em 2006 pela DGPC. O linurão juntamente com a metribuzina são os herbicidas mais utilizados na cultura do tomateiro pelos agricultores. São herbicidas de risco devido a acção específica, à elevada eficácia e persistência no solo e estão associados a ocorrência de resistência nas culturas em Portugal. Estes dois pesticidas também são muito utilizados na cultura da batateira^[76]. O linurão e o EPTC são dois dos pesticidas pesquisados na análise de águas para consumo humano.

A seguir à tab. 4 apresenta-se uma breve descrição das características principais dos pesticidas: butilato, carbaril, carbofurão, clorprofame, EPTC, etiofencarbe, linurão, metobromurão e monolinurão. Os herbicidas são a família química mais representada, isto é, com seis pesticidas (butilato, clorprofame, EPTC, linurão, metobromurão e monolinurão) e os insecticidas com três pesticidas (carbaril, carbofurão e etiofencarbe). Analisaram-se seis pesticidas da família dos carbamatos (butilato, carbaril, carbofurão, clorprofame, EPTC e etiofencarbe) e três pesticidas da família das ureias (linurão, metobromurão e monolinurão).

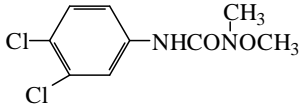
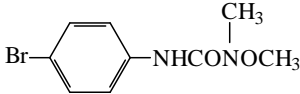
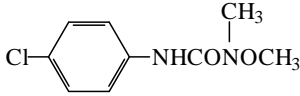
Tab. 3: Resumo das características mais relevantes que diferenciam os pesticidas das duas famílias em estudo^[98].

| <i>Características</i> | | <i>Carbamatos</i> | <i>Ureias</i> |
|-----------------------------|------------------------|---|---------------------------|
| Acção | | -Inibição da acetilcolinesterase -Inibição da mitose -Inibição da síntese dos lípidos | -Inibição da fotossíntese |
| Persistência | | Não persistentes | Não persistentes |
| Toxicidade | <i>mais tóxico</i> | Carbofurão | Monolinurão |
| | <i>menos tóxico</i> | Clorprofame | Linurão |
| Aplicação na Europa | <i>mais utilizado</i> | Carbofurão e clorprofame | Linurão |
| | <i>menos utilizado</i> | Butilato e etiofencarbe | Monolinurão |
| Solubilidade em água | <i>mais solúvel</i> | Etiofencarbe | Monolinurão |
| | <i>menos solúvel</i> | Butilato | Linurão |

Tab. 4: Propriedades físico-químicas dos pesticidas em estudo (extraído de ^[98]).

| Composto | Formula de estrutura | Modo de acção | Família Química | Massa molecular (g/mol) | Solubilidade em água (mg/l) | Pressão de vapor (mPa) | Constante de Henry (Pa m ³ /mol) | K _{ow} (LogP) |
|---------------------|---|---|-----------------|-------------------------|--------------------------------|--|---|------------------------|
| Butilato | $[(CH_3)_2CHCH_2]_2NC(O)SCH_2CH_3$ | -Herbicida | Tiocarbamato | 217,4 | 36 (T=20 °C) | 1,73x10 ³ (T=25 °C) | - | - |
| Carbaril |  | -Insecticida -Regulador de crescimento das plantas | Carbamato | 201,2 | 120 (T=20 °C) | 4,10x10 ⁻² (T=20 °C) | - | 1,59 |
| Carbofurão |  | -Insecticida -Nematocida | Carbamato | 221,3 | 320 (T=20 °C) 351 (T=25 °C) | 3,10x10 ⁻² (T=23,5 °C) | - | 1,52 |
| Clorprofame |  | -Herbicida -Regulador de crescimento das plantas | Carbamato | 213,7 | 89 (T=25 °C) | - | - | - |
| EPTC | $C_2H_5S-C(=O)-N(C_3H_7)_2$ | -Herbicida | Tiocarbamato | 189,3 | 375 (T=25 °C) | 1,00x10 ⁻² (T=25 °C) | - | 3,20 |
| Etiofencarbe |  | -Insecticida | Carbamato | 225,3 | 1800 (T=20 °C) | 4,50x10 ⁻¹ (T=20 °C) 9,40x10 ⁻¹ (T=25 °C) 2,60x10 ¹ (T=50 °C) | - | 2,04 |

continua

| Composto | Formula de estrutura | Modo de acção | Família Química | Massa molecular (g/mol) | Solubilidade em água (mg/l) | Pressão de vapor (mPa) | Constante de Henry (Pa m ³ /mol) | K _{ow} (LogP) |
|---------------------|---|---------------|-----------------|-------------------------|-----------------------------|---|---|------------------------|
| Linurão |  | -Herbicida | Ureia | 249,1 | 63,8 (T=20 °C, pH=7) | 5,10x10 ⁻² (T=20 °C) 7,10 (T=50 °C) | 2,0x10 ⁻⁴ (T=20 °C) | 3,00 |
| Metobromurão |  | -Herbicida | Ureia | 259,1 | 330 (T=20 °C) | 4,00x10 ⁻¹ (T=20 °C) | 3,1x10 ⁻⁴ | 2,41 |
| Monolinurão |  | -Herbicida | Ureia | 214,6 | 735 (T=25 °C) | 1,30 (T=20 °C) 1,00x10 ² (T=50 °C) | 5,6x10 ⁻⁴ | 2,20 |

1.2.5.1. Butilato

O butilato (S-etil di-isobutiltiocarbamato) é um herbicida sistémico selectivo, é absorvido pelas plantas e pelos coleóptilos, inibe: o metabolismo lípidico, o crescimento das plantas e a germinação. Apresenta DL_{50} aguda oral > 3.500 mg/kg para ratinhos^[98].

Nas plantas a substância activa é rapidamente metabolizada a dióxido de carbono, diisobutilamina e ácidos gordos. Nos solos ocorre uma degradação biológica que envolve a hidrólise do butilato a etilmercaptano, diisobutilamina e dióxido de carbono. A substância activa butilato era utilizada no controlo anual de ervas nas culturas de milho^[98].

No Brasil não é imposto um intervalo de segurança por este ser utilizado apenas nos tratamentos de sementes e/ou do solo durante o plantio^[120]. Na listagem publicada pela FAO referente a 7 de Outubro de 2003 (limite Máximo de Resíduo (LMR) de 0,1 mg/kg), nos países europeus, o butilato é aplicado apenas na Espanha e na Itália^[74]. De acordo com a publicação da listagem das substâncias activas com uso proibido em Portugal publicada pela DGPC de 28/02/2005 e actualizado em 26 de Maio de 2006, o butilato é uma substância activa não autorizada em Portugal^[121].

1.2.5.2. Carbaril

O primeiro insecticida carbamato de sucesso foi o carbaril (1-naftil metilcarbamato)^[98]. Propriedades distintas fizeram do carbaril o mais popular dos carbamatos: a baixa toxicidade oral e dermatológica nos mamíferos, o largo espectro de acção no controlo de insectos e a baixa acumulação^[70]. É um insecticida que actua por contacto e ingestão, permite o combate de mais de 100 espécies de insectos^[122] e é aplicado em mais de 120 produtos agrícolas^[98]. O carbaril é moderadamente tóxico, no entanto pode causar efeitos adversos nos humanos pelo contacto com a pele, pela inalação ou ingestão^[123]. Possui DL_{50} aguda oral de 850 mg/kg para ratinhos machos, 500 mg/kg para ratinhos fêmeas e 710 mg/kg para coelhos; DL_{50} aguda dérmica para ratos > 4.000 mg/kg e para coelhos > 2.000 mg/kg^[98]. Os seus resíduos podem aparecer em frutos e vegetais constituindo um grave problema aos consumidores^[85]. Os resíduos de carbaril após absorção no tomateiro, tendem a acumular-se com teores mais elevados nos frutos, quando comparados com outras partes da planta, mas os resíduos dissipam-se rapidamente^[124].

Nas plantas o carbaril é metabolizado a 4-hidroxicarbaril, 5-hidroxicarbaril, 7-hidroxicarbaril, 5-6-dihidrodiol carbaril e metilol-carbaril; em meio alcalino é hidrolisado a

1-naftol^[98]. O produto de decomposição 1-naftol é mais tóxico para os organismos aquáticos do que o produto original^[102].

Estudos efectuados com o carbaril, permitiram confirmar que este pesticida causa um ligeiro risco mutagénico, no entanto, a continua exposição e o consumo indirecto do pesticida através de comida contaminada, podem levar à formação de N-nitrosocarbaril pela reacção do carbaril com o nitrito, encontrado nos aditivos alimentares ou na saliva. Este produto de transformação já demonstrou ser altamente mutagénico em baixos níveis de contaminação nos testes de laboratório e é cancerígeno para doses elevadas nos ratos. A baixa persistência no ambiente fazem dele um excelente pesticida, no entanto, a sua monitorização é necessária face aos efeitos adversos na saúde^[123]. No Japão, este pesticida é normalmente encontrado nos citrinos^[125].

As formulações que contêm a substância activa são produtos perigosos para abelhas e organismos aquáticos. Aquando da aplicação da formulação, os agricultores devem evitar a contaminação das águas, não deve aplicar-se na época de floração e em terrenos agrícolas adjacentes a cursos de água. O Intervalo de segurança é de 7 dias para todas as culturas e 3 dias em tomateiro de tomate para fins industriais. As formulações vendidas em Portugal são: Permutex, Ravyon e Visene. As formulações referidas contêm 50 % (m/m) em teor de substância activa^[122]. Na listagem publicada pela FAO relativa aos países da Europa, o carbaril é aplicado nos seguintes países: Bélgica, França, Espanha, Portugal, Itália, Chipre e Grécia^[74].

1.2.5.3. Carbofurão

O carbofurão (2,3-dihidro-2,2-dimetilbenzofurano-7-il metilcarbamato)^[98] é um insecticida sistémico de largo espectro de acção, com elevada eficácia contra as pragas do solo, pode ser utilizado como insecticida ou nematocida. Possui efeitos secundários sobre nematodos livres, actua por contacto e ingestão. Permite controlar as pragas do solo durante o ciclo vegetativo das culturas. Controla os insectos que atacam a parte aérea das culturas durante o período crítico de um mês e meio após a sua emergência^[126].

Bogialli S. *et al* referem que os resíduos de carbamatos são de preocupação para o controlo alimentar^[84] porque alguns destes pesticidas têm uma elevada toxicidade aguda. O carbofurão possui um DL₅₀ de 8 mg/kg para ratinhos, 15 mg/kg para cães e 14,4 mg/kg para ratos, DL₅₀ dérmica > 3.000 mg/kg, CL₅₀ (4 horas) é de 0,075 mg/L de ar para ratinhos^[98].

O 3-hidroxicarbofurão, o 3-cetocarbofurão e o 3-hidroximetilcarbofurão são os produtos

de degradação do pesticida carbofurão. Os produtos de degradação são muito mais tóxicos do que o carbofurão. O produto de degradação 3-hidroxicarbofurão é muito polar^[6]. Nas plantas o carbofurão é rapidamente metabolizado em 3-hidroxicarbofurão e 3-cetocarbofurão^[98].

O Brasil é o terceiro país que mais utiliza os pesticidas no mundo, com mais de 300 milhões de toneladas de produtos de formulação em 2001. Anualmente, mais de 500 casos de envenenamento com pesticidas usados na agricultura são descritos oficialmente. O carbofurão encontra-se na lista dos insecticidas mais usados no Brasil^[127]. Caldas E.D. *et al* determinaram a presença de elevada concentração de carbofurão em águas. Os autores referem que a elevada concentração do pesticida carbofurão é considerada como um problema para a saúde pública uma vez que cerca de 30-100 % das zonas rurais no Brasil utiliza as águas dos poços para consumo^[96]. Vários casos são relatados da morte de animais, como é o caso da morte de mais de 2 milhões de aves por ano só nos EUA, pelo uso do carbofurão de forma granular pelos agricultores. O carbofurão juntamente com o aldicarbe têm sido os tóxicos mais detectados em iscos e animais envenenados em Espanha na última década^[128].

As formulações que contêm a substância activa são produtos perigosos para organismos aquáticos, aves e fauna selvagem. Na aplicação da formulação os agricultores devem evitar a contaminação das águas, não devem aplicar em terrenos agrícolas adjacentes a cursos de água, impedir o acesso de animais às áreas tratadas durante, pelo menos, 42 dias. O Intervalo de Segurança é de 90 dias em videira; não deve ser utilizado depois da sementeira ou plantação das culturas de milho, beterraba, tomateiro, e batateira. As formulações existentes em Portugal são: Diafuran 5G, Carbofurão Selectis, Carbofurão Sapec, Perfuran, Furadan 5G e Curaterr. As formulações referidas contêm apenas 5 % (m/m) em teor de substância activa^[122]. Na listagem publicada pela FAO relativo aos países da Europa, o carbofurão é aplicado em 18 países europeus, incluído Portugal^[74].

1.2.5.4. Clorprofame

O Clorprofame (isopropil 3-clorocarbanilato)^[98] é um herbicida sistémico selectivo e um regulador de crescimento das plantas. É utilizado como um controlo de pré-emergência. Anti-abrolhante para batata de consumo armazenada inibe o desenvolvimento dos brotos, actuando como anti-meristemático, aumentando o tempo de conservação. Apresenta DL₅₀ aguda oral para ratinhos de 5.000-7.500 mg/kg, para coelhos de 5.000 mg/kg^[122].

Nas plantas foram identificados três importantes produtos de degradação:

o isopropil *N*-4-hidroxi-3-clorofenilcarbamato, o isopropil *N*-5-cloro-2-hidroxifenilcarbamato e o 1-hidroxi-2-propil-3'-clorocarbanilato. De acordo com o Manual de Pesticidas na cultura de pepino apenas foi identificado o primeiro produto de degradação. No solo, a degradação biológica produz o metabolito 3-cloroanilina pela reacção da hidrólise enzimática^[98].

As formulações que contêm a substância activa são produtos perigosos para organismos aquáticos. Na aplicação da formulação os agricultores devem evitar a contaminação das águas, não devem aplicar em terrenos agrícolas adjacentes a cursos de água. Não utilizar a menos de 21 dias da venda ou consumo de batata armazenada. As formulações existentes em Portugal são: Batalex Novo, Quifame, Tubex, Birgin e Neo-Stop. As formulações referidas contêm apenas 1 % (m/m) em teor de substância activa^[122]. Na Europa na listagem publicada pela FAO, o clorprofame é aplicado em 21 países europeus, incluindo Portugal^[74].

1.2.5.5. EPTC

O EPTC (S-etil dipropiltiocarbamato)^[98] é um herbicida sistémico, de absorção radicular e foliar, com acção residual e selectivo, para aplicação em pré-plantação da batateira. Este herbicida actua a diferentes níveis: bloqueia a germinação dos infestantes, impede o normal funcionamento das raízes (absorção de água e nutrientes)^[126]. Apresenta DL₅₀ > 2000 mg/kg aguda oral para ratinhos^[98].

Nas plantas o EPTC é rapidamente metabolizado a dióxido de carbono e outros produtos de degradação. No solo, o EPTC é rapidamente degradado pelos microrganismos em resíduos mercaptanos, resíduos amino e dióxido de carbono^[98].

A formulação que contém o EPTC não deve ser aplicada em solos arenosos pobres em matéria orgânica. Na aplicação da formulação o agricultor deve evitar a contaminação em terrenos e culturas vizinhas, e não se deve aplicar com temperaturas inferiores a 10 °C. O EPTC está autorizado até 31 de Dezembro de 2007 ao abrigo dos "Usos Essenciais"^[126]. As formulações vendidas em Portugal são: Program G e Program 6E. As formulações referidas contêm 7,5 % e 75,8 % (m/m) em teor de substância activa^[122]. Na listagem publicada pela FAO referente a Outubro de 2003, relativa aos países da Europa, os países onde é aplicado o EPTC são: Áustria, França, Espanha, Portugal, Itália, Grécia e Hungria^[74].

1.2.5.6. Etiofencarbe

O etiofencarbe (α -etiltio-*o*-tolil metilcarbamato)^[98] é um insecticida sistémico, elimina de um modo selectivo os parasitas das culturas dos vegetais, cereais e árvores de fruto^[129]. O DL₅₀ aguda oral para ratinhos é de 200 mg/kg, 240 mg/kg para ratos e de > 50 mg/kg para cadelas^[98]. O etiofencarbe tem sido muito utilizado pelos agricultores devido à sua baixa toxicidade dérmica e oral em mamíferos, comparativamente com a sua grande capacidade insecticida^[129].

Os resíduos do pesticida podem aparecer nos alimentos (vegetais, frutos, cereais), nas águas (subterrâneas, superficiais) e nos solos^[129]. Em soluções aquosas a velocidade de fotodegradação é muito elevada. O etiofencarbe tem uma elevada mobilidade no solo, no entanto é rapidamente degradado nos produtos de degradação: o etiofencarbe sulfóxido, o etiofencarbe sulfona e nos correspondentes produtos fenólicos^[98].

O LMR do etiofencarbe na cultura dos vegetais transcrito do Diário da República-I Série-B, N.º 255, 4-11-1996 é de 0,05 mg/kg sendo este valor obtido pela soma de etiofencarbe, etiofencarbe sulfóxido e etiofencarbe sulfona, valor expresso em etiofencarbe^[122]. Na listagem publicada pela FAO referente a 7 de Outubro de 2003, relativo aos países da Europa, é utilizado nos países de Áustria, França, Espanha e Itália^[74]. De acordo com a publicação da listagem das substâncias activas com uso proibido em Portugal publicada pela DGPC de 28/02/2005 e actualizado em 26 de Maio de 2006, o etiofencarbe é uma substância activa proibida em Portugal^[121].

1.2.5.7. Linurão

O linurão (3-(3,4-(diclorofenil)-1-metoxi-1-metilureia)^[98] é um herbicida residual sistémico e selectivo, apresentando boa acção de contacto. Actua sobre um grande número de infestantes anuais em diferentes tipos de culturas. A parte do produto absorvido pelas raízes é transportado, na planta, pelo xilema até atingir as folhas^[122].

O linurão é uma das mais importantes ureias comerciais, tem uma boa actividade de contacto e é um herbicida selectivo em diferentes tipos de cultura^[98]. A acção do linurão resulta na inibição da formação de ATP (Adenosina tri-fosfato) e NADPH (Nicotinamida adenina dinucleótido fosfato)^[110]. Possui DL₅₀ aguda oral para ratinhos de 1.500-4.000 mg/kg^[98].

Estudos bibliográficos mostram que o linurão é fortemente adsorvido pelo solo e a sua mobilidade é lenta, contribuindo para aumentar a persistência do pesticida no solo. Problemas ambientais ocorrem quando os pesticidas são adsorvidos por solos com teores de matéria orgânica elevada^[110, 112, 130-134]. A análise do linurão em matrizes como o solo e águas requer métodos de análise muito sensíveis e precisos^[132].

As formulações que contêm a substância activa são produtos muito perigosos para organismos aquáticos. Na aplicação da formulação os agricultores devem evitar a contaminação das águas, não devem aplicar em terrenos agrícolas adjacentes a cursos de água. As formulações vendidas em Portugal são: Afalon Flo com 450 g/L de substância activa; Linurex Flow e Linor Flow com 500 g/L de substância activa; Linozerba, Norunil 50 WP, Linulon, Linumar, Linor e Afalon com 50 % (m/m) de substância activa^[122]. Na listagem publicada pela FAO, relativo aos países da Europa, o linurão é aplicado em 19 países europeus, incluindo Portugal^[74].

1.2.5.8. Metobromurão

O metobromurão (3-(4-bromofenil)-1-metoxi-1-metilureia) é um herbicida sistémico selectivo, absorvido pelas raízes da planta. É usado como um herbicida de pré-emergência no controlo de ervas nas plantações de feijão, açúcar, tabaco, batata, tomate, soja e milho. Possui DL₅₀ aguda oral para ratinhos de 2.603 mg/kg^[98].

Nas plantas a substância activa é rapidamente metabolizada a dióxido de carbono, diisobutilamina e ácidos gordos. Nos solos ocorre uma degradação biológica que envolve a hidrólise do butilato a etilmercaptano, diisobutilamina e dióxido de carbono^[98].

Na Europa na listagem de 7 de Outubro de 2003, pela FAO, o metobromurão é aplicado nos seguintes países: Bélgica, Dinamarca, Áustria, França, Espanha, Portugal, Itália e Grécia^[74]. De acordo com a publicação da listagem das substâncias activas com uso proibido em Portugal publicada pela DGPC de 28/02/2005 e actualizado em 26 de Maio de 2006, o metobromurão é uma substância activa proibida em Portugal^[121].

1.2.5.9. Monolinurão

O monolinurão (3-(4-clorofenil)-1-metoxi-1-metilureia) é um herbicida sistémico

selectivo, absorvido pelas raízes da planta. Usado como um herbicida de pós e pré-emergência no controlo anual de ervas existentes nas culturas de frutos de bagas, espargo, feijão, uvas, alho-porro, milho, cebola, batata, flores e árvores. Apresenta DL_{50} aguda oral para ratinhos entre 1.430 a 2.490 mg/kg^[98].

A degradação nas plantas da substância activa é semelhante à ocorrida nos solos. Nos solos há formação de 3-(2-hidroxi-4-clorofenil)ureia e compostos 3-hidroxi^[98].

Na listagem de 9 de Outubro de 2001, pela FAO, o monolinurão não é aplicado em nenhum país da Europa^[74].

1.2.6. Legislação e LMR aplicados aos pesticidas em estudo

A segurança alimentar tornou-se numa das prioridades da política comunitária, devido à perda de confiança do público na capacidade da indústria alimentar e das entidades públicas de a garantirem^[135]. Como já foi referido anteriormente, os produtos fitofarmacêuticos podem contribuir positivamente para a produção de alimentos, mas podem também apresentar sérios riscos para a saúde do Homem e dos animais e para o meio ambiente. Para tentar eliminar alguns dos efeitos negativos de aplicação de produtos fitofarmacêuticos, estabeleceram-se medidas de controlo, nas mais variadas legislações, nomeadamente para importação, venda, rotulagem, utilização, armazenamento, eliminação de excedentes de produtos fitofarmacêuticos, protecção: do utilizador, do consumidor, das culturas, dos animais e do meio ambiente^[70].

A homologação dos produtos fitofarmacêuticos é um sistema através do qual o serviço oficial responsável (em Portugal a DGPC), aprova a colocação no mercado e a utilização de produtos fitofarmacêuticos, devidamente rotulados, através da concessão de uma autorização com base em avaliações ecotoxicológicas, entre outras, que demonstrem que o produto é eficaz para o controlo que se destina e que não apresenta riscos inaceitáveis para a saúde humana, animal e para o ambiente^[136].

Em Janeiro de 2002, foi criada pelo Parlamento Europeu (PE) e pela CE, uma Autoridade Europeia para a Segurança Alimentar (AESa) para fornecer pareceres científicos e apoio técnico à legislação e às políticas comunitárias nos domínios, com impactos na segurança dos géneros alimentícios e/ou alimentos^[70]. A avaliação de riscos do conjunto dos teores máximos aplicáveis aos resíduos cabe à AESa, esta instância estabelecerá a inocuidade do teor máximo de cada pesticida nos alimentos^[137]. Torna-se necessário elaborar uma estratégia destinada a reduzir os impactos dos pesticidas na saúde humana e no meio ambiente e, de forma

mais geral, velar por uma utilização mais sustentável dos pesticidas e por uma redução global sensível dos riscos e das utilizações, garantindo simultaneamente a necessária protecção das culturas^[138].

No caso dos cereais e dos produtos de origem vegetal, incluindo frutos e produtos hortícolas, os limites de resíduos reflectem a utilização da quantidade mínima de pesticida necessária para proteger eficazmente as plantas, aplicada de modo que o resíduo seja tão baixo quanto a prática o permitir e simultaneamente aceitável do ponto de vista toxicológico, nomeadamente numa perspectiva de protecção do ambiente e com base nas estimativas de ingestão pelos consumidores. Os LMR comunitários representam a quantidade máxima dos resíduos em causa que será de esperar encontrar nos produtos se as boas práticas agrícolas tiverem sido respeitadas. Os LMR de pesticidas mantêm-se sujeitos a reapreciação podendo ser alterados em função de novos dados ou informações^[139].

Uma vez aprovada a proposta de regulamentação do PE e do CE, de 14 de Março de 2003, relativa aos teores máximos de resíduos nos produtos de origem vegetal ou animal, nenhum alimento destinado a consumo humano ou animal da UE poderá ultrapassar um teor máximo de pesticidas na respectiva composição. Pela primeira vez, a nível europeu, estabeleceu-se um teor máximo comum para todos os tipos de pesticidas, sem qualquer distinção entre as categorias de alimentos. O estabelecimento deste teor máximo tem por objectivo a harmonização das diferentes legislações nacionais. No entanto, ultrapassar este teor máximo não implica necessariamente um perigo para a saúde, porque não se trata de um limite que constitua um parâmetro toxicológico. Em Janeiro de 2005 esta proposta já estava em vigor^[137].

A exposição ao longo da vida e a exposição de curta duração dos consumidores a cada um dos pesticidas por via de produtos alimentares foi reavaliada e determinada com base nas metodologias e práticas comunitárias e nas directrizes publicadas pela OMS. Nessa base, convém estabelecer novos LMR que garantam a inexistência de uma exposição inaceitável dos consumidores^[139]. As directivas da UE estabelecem diferentes LMR para cada pesticida e em cada grupo de alimentos. A gama de LMR varia de 0,01 mg/kg a 3 mg/kg dependendo do pesticida. Para os vegetais e frutos utilizados na produção de comida para bebés o LMR é de 0,01 mg/kg aplicado a todos os pesticidas^[140, 141]. A introdução da legislação ambiental nos países tem confrontado os analistas com novos desafios de monitorização de diversas matrizes ambientais^[142, 143]. O teor máximo de resíduo de pesticida nos alimentos será de 0,01 mg/kg (limite máximo "por defeito"), em todos os casos em que a utilização de pesticidas não se justifique ou sempre que os resíduos possam constituir um perigo para a saúde humana. As substâncias relativamente às quais o teor de 0,01 mg/kg seja demasiado elevado para assegurar a saúde humana constituem excepções a este limite máximo "por defeito". A AESA fixará, para

essas substâncias, um outro teor que ofereça segurança. O limite máximo "por defeito" foi utilizado para quase 400 substâncias activas presentes nos produtos fitofarmacêuticos, que foram retirados do mercado a partir de 2003 (em aplicação da Directiva 91/414/CE)^[137].

Para os pesticidas utilizados neste trabalho apresentam-se as legislações nas tab. 5 e 6, para as substâncias activas com usos não autorizados e com usos autorizados em Portugal (referidas relatório de 28/02/2005 da DGPC do Ministério da Agricultura, actualizado em 26 de Maio de 2006).

Tab. 5: Legislação nacional para substâncias activas com usos não autorizados em Portugal (extraído de ^[121]).

| Substância activa | Legislação |
|-------------------|---|
| Butilato | Portaria 102/97 de 14/02/97 Portaria 49/97 de 18/01/97 |
| Etiofencarbe | Portaria 625/96 de 04/11/96 Portaria 649/96 de 12/11/96 |
| Metobromurão | Portaria 102/97 de 14/02/97 Portaria 49/97 de 18/01/97 |
| Monolinurão | D.L. 215/2001 de 2/08/01 Portaria 102/97 de 14/02/97 Portaria 49/97 de 18/01/97 |

Tab. 6: Legislação para substâncias activas com usos em Portugal (extraído de ^[121]).

| Substância activa | Legislação |
|-------------------|---|
| Carbaril | Portaria 488/90 de 29/06/90 Portaria 491/90 de 30/06/90 Portaria 492/90 de 30/06/90 |
| Carbofurão | D.L. 215/2001 de 2/08/01 Portaria 625/96 de 04/11/96 |
| Clorprofame | Portaria 491/90 de 30/06/90 |
| Linurão | Portaria 102/97 de 14/02/97 Portaria 49/97 de 18/01/97 |
| EPTC | Portaria 102/97 de 14/02/97 |

De acordo com as informações do 3º trimestre de 2003 dos produtos fitofarmacêuticos o linurão é uma substância activa incluída na LPC, enquanto que os pesticidas: butilato, etiofencarbe, monolinurão, metobromurão não foram incluídos na LPC no 3º trimestre de 2003 (tab. 7)^[144]. As informações referentes ao 2º trimestre de 2006 indicam a continuação do linurão como uma substância activa incluída na LPC e a não inclusão dos pesticidas do nosso estudo: butilato, etiofencarbe, monolinurão, metobromurão e EPTC na LPC (tab. 7)^[119].

Tab. 7: Substâncias activas não incluídas na Lista Positiva Comunitária (LPC-Anexo 1 da Directiva 91/414/CEE) (extraído de ^[144]).

| Substância activa | Butilato | Etiofencarbe | Monolinurão | Metobromurão | EPTC |
|--|-----------------------|-----------------------|---------------------|-----------------------|--------------------------------------|
| Data | 20-11-2002 | 20-11-2002 | 09-03-2000 | 20-11-2002 | 20-11-2002 |
| Publicação | JO L319 de 23.11.2002 | JO L319 de 23.11.2002 | JO L73 de 22.3.2000 | JO L319 de 23.11.2002 | JO L319 de 23.11.2002 |
| Prazo para Retirado do mercado | 25-07-2003 | 25-07-2003 | 22.3.2000 | 25-07-2003 | 25-07-2003 |
| Prazo máximo para esgotamento dos stocks | 31-12-2003 | 31-12-2003 | 09-09-2001 | 31-12-2003 | 31-12-2003 |
| Usos essenciais em Portugal | | | | | 30/06/2007 e 31/12/2007 em batateira |

Na tab. 8, apresentam-se os LMR para os pesticidas estudados, nomeadamente, o carbaril, o carbofurão, o clorprofame, o linurão e o EPTC, transcritos do relatório de 28/02/2005 da DGPC, das substâncias activas com usos em Portugal, actualizado em 26 de Maio de 2006^[121]. Foram introduzidos na tabela os valores publicados pela Directiva 2006/59/CE da Comissão de 28 de Junho de 2006 que altera os anexos das Directivas 76/895/CEE, 86/362/CEE e 90/642/CEE do Conselho, no que diz respeito aos limites máximos de resíduos de carbaril^G, deltametrina, endossulfão, fenitrotião e oxamil. No anexo III (Pág. 204 à 206), apresentam-se os valores de LMR e as respectivas legislações aplicadas às substâncias não incluídas na LPC.

^G Pesticida usado neste estudo.

Tab. 8: Limites máximos de resíduos em produtos agrícolas para os pesticidas em estudo e legislação vigente, referente ao relatório de 28 de Fevereiro de 2005, publicada pela Direcção Geral de Protecção de Culturas (extraído de ^[121]).

| Substância activa | Produto Agrícola | LMR (mg/kg) | Legislação |
|--------------------|--------------------------|-------------|--|
| Carbaril | Agrião de água | 3 | Ponto 3 do Art 4º do D.L. 144/03 de 2/07/03 |
| | Algodão(sementes) | 1 | Portaria 488/90 de 29/06/90 |
| | Azeitona | 1 | Portaria 488/90 de 29/06/90 |
| | Batata | 0,1 | Portaria 491/90 de 30/06/90 |
| | | 0,05 | Directiva 2006/59/CEE de 28 de Junho de 2006 |
| | Cenoura | 0,05 | Directiva 2006/59/CEE de 28 de Junho de 2006 |
| | Cebola | 0,05 | Directiva 2006/59/CEE de 28 de Junho de 2006 |
| | Couves de cabeça | 3 | Portaria 488/90 de 29/06/90 |
| | | 0,05 | Directiva 2006/59/CEE de 28 de Junho de 2006 |
| | Couves de folha | 3 | Portaria 488/90 de 29/06/90 |
| | | 0,05 | Directiva 2006/59/CEE de 28 de Junho de 2006 |
| | Couves de Inflorescência | 3 | Portaria 488/90 de 29/06/90 |
| | | 0,05 | Directiva 2006/59/CEE de 28 de Junho de 2006 |
| | Maçã | 3 | Portaria 488/90 de 29/06/90 |
| | Melão | 1 | Portaria 488/90 de 29/06/90 |
| | Milho | 0,5 | Portaria 492/90 de 30/06/90 |
| | Nabiça | 3 | Ponto 3 do Art 4º do D.L. 144/03 de 2/07/03 |
| | Nabo-de-grelo | 3 | Ponto 3 do Art 4º do D.L. 144/03 de 2/07/03 |
| | Pêra | 3 | Portaria 488/90 de 29/06/90 |
| | Tomate | 1 | Portaria 488/90 de 29/06/90 |
| | | 0,5 | Directiva 2006/59/CEE de 28 de Junho de 2006 |
| Carbofurão | Banana | 0,1 | * |
| | Cebola | 0,3 | |
| | Cenoura | 0,3 | |
| | Couves de Inflorescência | 0,2 | |
| | Milho | 0,1 | * |
| | Tomate | 0,1 | * |
| | Uvas | 0,1 | * |
| Clorprofame | Batata | 5 | |
| Linurão | Cebola | 0,05 | |
| | Cenoura | 0,2 | |
| | Ervilha sem casca | 0,1 | (p) |
| | Fava | 0,05 | *(p) |
| | Milho | 0,05 | *(p) |
| | Pastinaga | 0,2 | (p) |
| | Sorgo | 0,05 | *(p) |
| | Uvas | 0,05 | *(p) |
| EPTC | Batata | 0,05 | |

* indica o limite da determinação analítica; (p) indica o limite máximo de resíduo em conformidade com a alínea f) do n.º 1 do artigo 4.º da Directiva 91/414/CEE: se não for alterado, este teor tornar-se-á definitivo em 19 de Julho de 2010.

1.3. Métodos de análise de pesticidas em produtos agrícolas

1.3.1. Processos de amostragem e de conservação da amostra

O processo analítico envolve uma sucessão de etapas que incluem a amostragem, a preparação de amostra, a separação dos analitos, a quantificação e, por último, a avaliação estatística dos resultados obtidos. Cada um destes passos apresenta-se determinante para a qualidade do resultado final^[145].

A análise de quantidades vestigiais de micropoluentes orgânicos em matrizes complexas como são os tecidos vegetais e outros alimentos, constitui uma tarefa laboriosa, demorada e cuja fiabilidade é muitas vezes posta em causa pelas inúmeras etapas de pré-tratamento da amostra. Actualmente, existe um consenso quanto à necessidade de desenvolver novas abordagens analíticas que sejam mais rápidas e simultaneamente menos laboriosas e dispendiosas, quer do ponto de vista dos custos de operação, quer dos próprios custos ambientais decorrentes dos resíduos laboratoriais produzidos^[31]. Para amostras de vegetais e frutos, são referidos na literatura ensaios nos quais toda a amostra é recolhida e, após a pesagem, é triturada. Para as amostras de solo, procede-se à homogeneização e ao quarteamento antes da extracção.

A amostragem define o procedimento de recolha de uma parte de substância, que proporciona uma amostra representativa do lote. O procedimento de amostragem deve descrever a selecção, o plano de amostragem, a recolha e a conservação das substâncias a analisar^[70].

A Directiva 79/700/CEE da Comissão, de 24 de Julho de 1979, define métodos comunitários de colheita de amostras para o controlo oficial dos resíduos de pesticidas em produtos agrícolas e estabelece métodos de amostragem para os resíduos de pesticidas nos produtos agrícolas. Torna-se necessário actualizar esses métodos à luz do progresso técnico e estabelecer métodos de amostragem para os resíduos de pesticidas nos produtos de origem animal e noutros produtos de origem vegetal. A Comissão do *Codex Alimentarius* elaborou e adoptou métodos de amostragem para a determinação de resíduos de pesticidas com vista à verificação da observância dos teores máximos de resíduos. A Comissão apoiou e ratificou os métodos recomendados. Há que substituir as disposições actuais em matéria de amostragem pelas disposições elaboradas e adoptadas pela Comissão do *Codex Alimentarius*. A Directiva de 2002/63/CE estabelece métodos de amostragem comunitários para o controlo oficial de resíduos

de pesticidas no interior e à superfície de produtos de origem vegetal ou animal e revoga a directiva 79/700/CE. As amostras destinadas ao controlo oficial de teores de resíduos de pesticidas no interior e à superfície de cereais, produtos agrícolas e em produtos de origem animal devem ser colhidas de acordo com os métodos descritos pelo referido decreto (2002/63/CE)^[146].

Uma toma de amostra é uma quantidade representativa retirada da amostra para análise, de dimensão adequada para a determinação da concentração do resíduo^[146]. Na tabela seguinte (tab. 9) apresenta-se a dimensão mínima de cada amostra para a análise de acordo com os produtos agrícolas, assim como, a parte do produto que deve ser triturada antes de proceder à extracção^[146, 147].

Tab. 9: Produtos de origem vegetal: descrição das amostras primárias e dimensão mínima das amostras e da parte do produto a que se aplicam os limites máximos de resíduo (extraído de^[146]).

| Classificação dos produtos | Exemplos | Massa mínima de cada amostra (kg) | Parte do produto a que se aplicam os limites máximos de resíduos |
|---|----------------|-----------------------------------|--|
| Produtos frescos (frutos e produtos hortícolas); unidades geralmente < 25 g | Bagas | 1 | -Produto inteiro, após a remoção dos pedúnculos, caso existam (maças, laranjas, tomate, uvas, pepino). |
| | Ervilhas | | |
| | Azeitonas | | |
| Produtos frescos (frutos e produtos hortícolas) de tamanho médio; unidades geralmente de 25-250 g | Maças | 1* | -Produto com ou sem vagem, consoante esta seja ou não comestível (ervilhas, feijão). |
| | Laranjas | | |
| Produtos frescos (frutos e produtos hortícolas) grandes; unidades geralmente > 250 g | Couves | 2** | -Produto inteiro, após a remoção da rama e da terra, caso existam (cenouras, cebolas, batata). |
| | Pepinos | | |
| | Cachos de uvas | | |
| Leguminosas de grão | Feijões secos | 1 | -Produto inteiro, após remoção das raízes, da casca que é facilmente destacável e da terra (cebola). |
| | Ervilhas secas | | |
| Cereais em grão | Arroz | 1 | -Grãos inteiros |
| | Trigo | | |
| Sementes de oleaginosas | Amendoins | 0,5 | -Grãos inteiros, após remoção da casca ou tegumento, se possível |
| Sementes para bebidas e doces | Café em grão | 0,5 | -Grãos inteiros |
| Plantas aromáticas | Salsa fresca | 0,5 | -Produto inteiro, após a remoção das folhas externas deterioradas, raiz e terra (caso existam) |
| Especiarias | Secas | 0,1 | -Produto inteiro |

* pelo menos 10 unidades; ** pelo menos 5 unidades

A amostra de laboratório deve ser colocada num recipiente limpo e de material inerte, que garanta uma protecção segura contra contaminações, danos ou perdas. O recipiente deve ser selado, etiquetado com segurança e fazer-se acompanhar do registo de amostragem^[146].

Se a amostra global foi maior do que o necessário, esta deve ser dividida de forma a constituir uma parte representativa. Pode utilizar-se um instrumento de amostragem, um divisor de amostra ou outro processo apropriado de redução de amostras. A amostra deve ser conservada de forma adequada, habitualmente no frigorífico, antes de proceder à homogeneização e à toma de uma parte representativa do todo para a análise. Deve ser sempre evitada qualquer contaminação ou deterioração das amostras por poderem afectar os resultados analíticos^[146].

1.3.2. Processos de extracção

Nos últimos anos o desenvolvimento de novas técnicas analíticas mais precisas permitiu a realização de um número de análises cada vez maior numa fracção de tempo menor. O potencial das novas técnicas analíticas só pode ser totalmente utilizado se a recolha de amostras e o seu tratamento forem efectuados de uma forma cuidadosa e conscienciosa. A qualidade do resultado final não depende apenas da "qualidade" ou do grau de sofisticação da técnica utilizada mas depende também do procedimento analítico que muitas vezes é descurado^[145]. O tratamento da amostra é a etapa mais morosa, podendo ser responsável por cerca de 30 % do erro total da análise, e envolve etapas de digestão, extracção, concentração e separação dos analitos. A fase de extracção é utilizada para remover, o mais selectivamente possível, a máxima quantidade do analito da matriz^[148].

Para a escolha de um método de extracção adequado deve-se ter em conta as propriedades físico-químicas do analito e da amostra em estudo^[70]. Devido às quantidades vestigiais de pesticidas presentes nos alimentos, torna-se necessário uma etapa de pré-tratamento da amostra incluindo pré-concentração e às vezes é necessário uma etapa de eliminação de interferentes^[149]. A escolha do solvente é a primeira etapa na implementação de uma nova metodologia. A polaridade do líquido extractor deverá ser semelhante à do analito, para que este se dissolva facilmente e os interferentes permaneçam o mais insolubilizados na matriz^[68]. Independentemente do tipo da matriz, o isolamento do soluto de uma matriz complexa tem por objectivo a extracção desse soluto num solvente ou numa mistura de solventes^[150].

No livro do Manual dos Pesticidas são estabelecidas técnicas de extracção de pesticidas em alimentos segundo o teor de lípidos^[98]. Nos alimentos com teor de lípidos abaixo de 2 % (m/m), a acetona, o acetonitrilo ou o acetato de etilo são os solventes mais utilizados no processo de extracção; para alimentos com teor de lípidos acima de 2 % (m/m) utilizam-se solventes de menor polaridade. A maioria dos frutos apresenta um teor de lípidos abaixo de 2 % (m/m)^[151]. O tomate contém 0,33 % (m/m) de lípidos e uma grande quantidade de componentes, tais como, água, proteínas, hidratos de carbono, fibras, minerais, vitaminas, aminoácidos, carotenóides, anticianinas e flavonóides. Este exemplo dá uma ideia da complexidade da matriz, dificultando o estabelecimento de um método que isole os pesticidas a um nível de concentração detectável. Melo L. F. C.^[151] descreve um procedimento de eliminação dos interferentes, utilizando cartuchos de aminopropil ou octadecil nas matrizes de uvas e tomate.

Diversos procedimentos analíticos têm sido propostos nos últimos anos para a determinação de resíduos de pesticidas em matrizes ambientais. Os métodos convencionais como a extracção por agitação mecânica^[87, 93, 109, 123, 152-173], a extracção líquido-líquido (LLE)^[100, 106, 174, 175], a extracção por Soxhlet (SOX)^[171, 176-178] e a extracção por ultra-sons (USE)^[83, 89, 90, 99, 134, 171, 179-181], são técnicas que empregam várias etapas para a extracção dos analitos nas matrizes ambientais, elevado tempo de extracção e utilizam um elevado volume de solventes orgânicos e tóxicos. Nos últimos anos têm surgido novas técnicas de extracção menos poluentes e mais rápidas na extracção de amostras ambientais, como a extracção em fase sólida (SPE)^[97, 175, 182-185], a micro-extracção em fase sólida (SPME)^[113, 176, 186], a dispersão da matriz em fases sólidas (MSPD)^[97, 187-190], a extracção com fluido supercrítico (SFE)^[88, 176, 191, 192], a extracção com líquidos pressurizados (PLE)^[193, 194] e a extracção assistida por microondas (MAE)^[88, 107, 114, 195-226]. Apresentam-se, seguidamente, na tab. 10, os princípios básicos destas metodologias de extracção.

Tab. 10: Explicação resumida das metodologias de extracção mais usuais.

| | |
|--|---|
| <p>Extracção por Soxhlet</p> <p>É um dos métodos mais antigos e eficientes de extracção de sólidos. A amostra é colocada num cartucho e extraída por condensação do solvente em refluxo. O processo é contínuo, lento, demorando, uma vez que a extracção demora mais de 12 horas^[150].</p> | <p>Extracção com líquidos pressurizados</p> <p>A amostra e solvente são aquecidos e pressurizados em vasos de extracção. Quando a extracção termina o extracto é transferido para um vial^[150].</p> |
| <p>Extracção acelerada com solvente</p> <p>A extracção é feita numa estufa utilizando vasos fechados com temperaturas na gama de 50 a 200 °C e pressões entre 150 a 2000 psi. A extracção é rápida e eficiente devido às altas temperaturas e o consumo de solvente é reduzido. A preparação das amostras sólidas e das amostras gasosas envolve sempre uma etapa para a transformação da matriz em estudo numa matriz líquida. O tratamento adequado a ser efectuado depende da matriz^[150].</p> | <p>Extracção por ultra-sons</p> <p>A amostra é imersa no solvente num vaso e colocada num banho ultrasónico^[150].</p> |
| <p>Extracção em fluido supercrítico</p> <p>É usada para extrair compostos não polares e moderadamente polares de matrizes sólidas. A amostra é colocada num reservatório por onde passa um fluido supercrítico. Depois da despressurização, a amostra é recolhida. Os fluidos mais utilizados são o dióxido de carbono, a amónia e o pentano. Embora esta técnica de extracção consiga extrair uma grande variedade de compostos apolares, é menos eficiente quando se trata de compostos polares. As variáveis mais importantes que afectam a extracção com fluido supercrítico são: a pressão do fluido, a temperatura, o fluxo e os co-solventes usados. A optimização da extracção deve ser feita caso a caso e a literatura tem oferecido uma variedade de métodos que podem ser usados como referência para o desenvolvimento de extracção^[150].</p> | <p>Extracção em fase sólida</p> <p>A extracção é realizada pela retenção selectiva dos compostos de interesse de uma matriz complexa. A extracção em fase sólida é normalmente mais eficiente que a extracção líquido-líquido e elevadas recuperações são obtidas com melhor separação dos interferentes. As fases utilizadas são C18, C8, ciano, fenil ou amino. As etapas em extracção em fase sólida são: o condicionamento, a aplicação da amostra, a lavagem e a eluição^[150].</p> |
| <p>Extracção líquido-líquido</p> <p>A extracção dos solutos é efectuada pela partição da amostra entre dois líquidos imiscíveis, sendo normalmente um aquoso e outro orgânico. Como o objectivo principal é a obtenção da máxima recuperação com o mínimo de interferentes possíveis, o solvente escolhido para a extracção deverá ser o mais polar, que forneça uma boa recuperação do analito com baixa extracção dos interferentes^[150].</p> | <p>Extracção assistida por microondas</p> <p>A amostra é extraída por energia de microondas. Usa-se normalmente um solvente de alta constante dieléctrica que absorva energia de microondas ou, então, um solvente de baixa constante dieléctrica que não absorva energia microondas. <u>No primeiro caso</u>, são utilizados vasos fechados (que não absorvam energia), o solvente é aquecido a uma temperatura superior à sua temperatura de ebulição, permitindo uma rápida extracção (MAE). Quando o solvente não absorve energia no microondas, usam-se vasos abertos ou fechados. <u>No segundo caso</u>, a selecção do solvente é efectuada na solubilidade que o mesmo deve fornecer ao analito quando este é libertado da amostra que absorve a radiação. Deste modo, a extracção é feita à temperatura atmosférica ou a baixas pressões (FMASE)^[150].</p> |

A tabela seguinte (tab. 11) resume as técnicas de extracção mais comuns para a extracção de analitos em matrizes sólidas e apresenta as vantagens e as desvantagens^[176, 196]. No anexo IV (Pág. 207 à 215), apresentam-se as tabelas que ilustram as técnicas de extracção utilizadas na extracção de pesticidas da família dos carbamatos e das ureias nas matrizes de vegetais, frutos e solos.

Tab. 11: Comparação entre técnicas de extracção tradicionais e as técnicas de extracção mais recentes^[176, 196].

| | <i>Técnica de extracção</i> | | | | | | |
|-------------------------------------|---|---|---|---|--|---|---|
| | MAE | FMASE | PLE | SFE | SOX | USE | LLE |
| Solventes | Orgânicos, água e mistura de solventes. | Orgânicos, água e mistura de solventes. | Orgânicos, água e mistura de solventes. | Fluidos supercríticos. | Solventes Orgânicos. | Orgânicos, água e mistura de solventes. | Orgânico, água ou mistura de solventes. |
| Tempo de extracção | 3 a 30 minutos | 10 a 60 minutos | 5 a 30 minutos | 10 a 60 minutos | 3 a 48 horas | 10 a 60 minutos | 10 minutos a 18 horas |
| Custo (investimento inicial) | Moderado | Moderado | Elevado | Elevado | Baixo | Baixo | Baixo |
| Quantidade de amostra | 1-10 g | 1-30 g | 1-30 g | 1-5 g | 1-30 g | 1-30 g | 1-30 g |
| Vantagens | <ul style="list-style-type: none"> -Extracção rápida e múltipla. -Pequenos volumes de solvente. -Temperaturas elevadas. | <ul style="list-style-type: none"> -Extracções rápidas. -Pequenos volumes de solvente. | <ul style="list-style-type: none"> -Extracções rápidas. -Pequenos volumes de solvente. - Temperaturas elevadas. -Filtração desnecessária. -Sistemas automáticos. | <ul style="list-style-type: none"> -Extracção rápida. -Volumes mínimos de solvente. -Temperaturas elevadas. -Relativa selecção de interferências na matriz. -Limpeza e filtração desnecessárias. -Extractos concentrados. -Sistemas automáticos. | <ul style="list-style-type: none"> -Filtração desnecessária. -Extracção já efectuada há muito tempo. | <ul style="list-style-type: none"> -Extracções múltiplas. | <ul style="list-style-type: none"> -Realizada à temperatura ambiente. -Não ocorre a degradação dos pesticidas. |
| Desvantagens | <ul style="list-style-type: none"> -Solvente utilizado tem que absorver radiação microondas. -Etapa de eliminação de interferentes. -Tempo de espera de arrefecimento dos vasos. -Possibilidade da ocorrência da degradação de alguns pesticidas. | <ul style="list-style-type: none"> -Solvente utilizado tem que absorver radiação microondas. -Etapa de eliminação de interferentes. -Tempo de espera de arrefecimento dos vasos. | <ul style="list-style-type: none"> -Etapa de eliminação de interferentes. -Possibilidade da ocorrência da degradação de alguns pesticidas. | <ul style="list-style-type: none"> -Optimização de muitos parâmetros, especialmente na escolha do analito. | <ul style="list-style-type: none"> -Extracções demoradas. -Volumes elevados de solvente. -Etapa de eliminação de interferentes. -Possibilidade da ocorrência da degradação de alguns pesticidas (N-metilcarbamatos). | <ul style="list-style-type: none"> -Volumes elevados de solvente. -Necessária etapa de limpeza. -Pode exigir repetição das extracções. | <ul style="list-style-type: none"> -É necessário uma etapa de filtração ou centrifugação. -Volumes elevados de solventes. -Etapa de eliminação de interferentes. |

Nos métodos tradicionais de extracção, como o SOX, USE e agitação mecânica, são utilizadas grandes quantidades de solventes orgânicos e tóxicos. A aplicação de técnicas de extracção mais amigas do ambiente para uma rápida extracção de matrizes sólidas faz com que a técnica MAE seja uma das alternativas atraentes, uma vez que permite uma redução significativa do volume de extracção a utilizar e a possibilidade da extracção de um elevado número de amostras numa única corrida^[88].

A acetona, o acetonitrilo, o metanol, o acetato de etilo, diclorometano e o hexano, são os solventes mais utilizados na extracção de pesticidas em alimentos e solos.

As matrizes líquidas como os sumos de fruta, o vinho e o mel são extraídos após uma prévia diluição com água destilada, para a redução dos interferentes presentes nas matrizes^[68].

Em 1994 a EPA adoptou a agitação mecânica como método de referência na extracção de *N*-metilcarbamatos em solos^[105].

1.3.3. Métodos de separação, identificação e quantificação

Os métodos analíticos utilizados devem ser: rápidos, robustos e simples para serem aplicados após a validação de um método^[227]; capazes de medir os resíduos de pesticidas nas diferentes matrizes ambientais a baixos níveis, permitindo a identificação, a quantificação e a detecção de qualquer resíduo^[228]. A monitorização constante dos níveis de resíduos dos pesticidas possibilita a tomada atempada de medidas adequadas^[70]. Entre os métodos analíticos mais úteis destacam-se os métodos multiresíduo, os quais permitem quantificar compostos de diferentes famílias químicas no mesmo ensaio, pode ser voltametria e não só cromatografia^[65].

A cromatografia é uma técnica analítica utilizada quer na investigação quer na indústria química, a descoberta é atribuída ao botânico russo Michel Tswett. Em 1903, Tsweet utilizou uma coluna de vidro contendo carbonato de cálcio para separar pigmentos de plantas. Os métodos cromatográficos são hoje em dia técnicas fundamentais na análise qualitativa e quantitativa de misturas complexas^[229].

Um elevado número de compostos não podem ser analisados por cromatografia gasosa (GC), quer devido à sua volatilidade ser insuficiente (não lhes permite a passagem através da coluna) quer devido à instabilidade térmica. Estas limitações não são, em geral, sentidas pela cromatografia líquida (LC) a qual opera a temperaturas inferiores a GC, sendo a fase móvel uma fase líquida mas devendo a amostra apresentar solubilidade suficiente no eluente. Na GC o gás é, em geral, inerte, não apresenta afinidade pelo soluto e simplesmente arrasta este através da

coluna, enquanto que na LC o eluente compete com a fase estacionária pelas moléculas dos solutos, existindo neste tipo de cromatografia duas fases com interacção selectiva sobre os solutos do que resulta a possibilidade de alterar um maior número de variáveis para se obter a separação pretendida. A LC pode, assim, apresentar maior eficiência de separação^[229]. A classificação de vários métodos de cromatografia é normalmente feita de acordo com a natureza da fase móvel e estacionária, respectivamente^[230]. Basicamente, um sistema de cromatografia líquida (ilustrado na fig. 28) engloba: reservatório de eluentes; bomba; injector; coluna cromatográfica; detectores e um sistema de aquisição de dados.

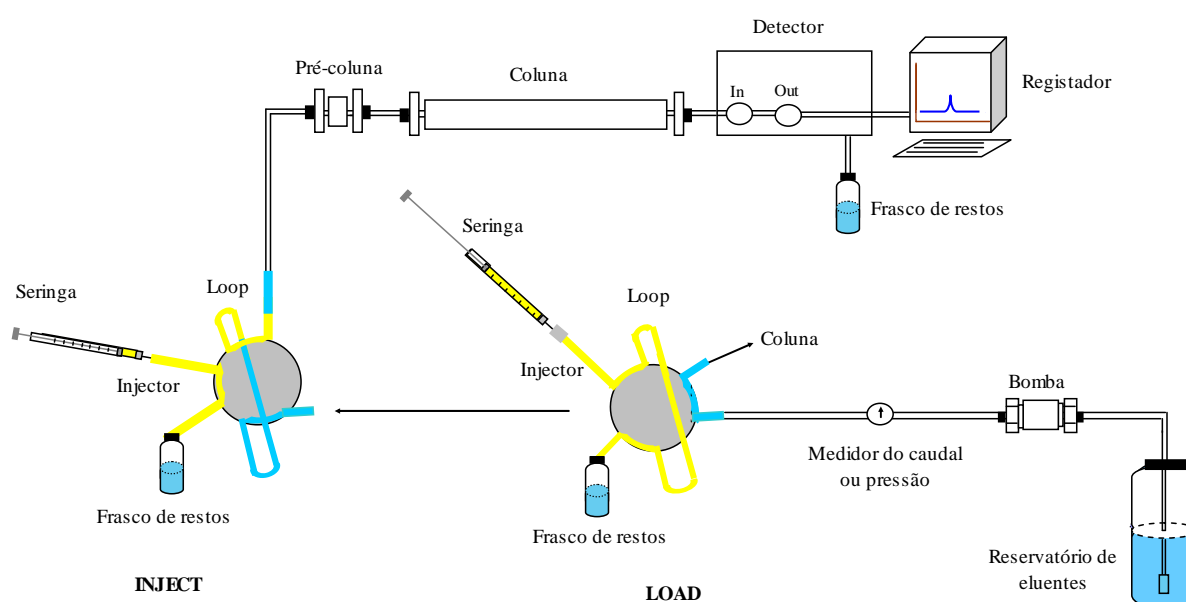


Fig. 28: Esquema representativo dos componentes de um sistema de cromatografia.

A cromatografia líquida de alta eficiência (HPLC) é uma das técnicas mais utilizadas actualmente, dadas as suas boas características de sensibilidade e de adaptabilidade à determinação quantitativa de um elevado número de compostos pouco voláteis ou termolábeis, entre os quais se destacam os pesticidas. O doseamento de resíduos de produtos fitossanitários em géneros alimentares tem sofrido um enorme desenvolvimento nos últimos anos, face às crescentes exigências a nível da segurança alimentar^[65]. A HPLC tornou-se assim numa poderosa ferramenta na análise de compostos polares e termolábeis em matrizes ambientais sendo frequentemente utilizada em análises de rotina numa vasta gama de laboratórios^[152].

Os pesticidas polares, como por exemplo os pesticidas carbamatos e ureias, são menos adequados à análise por GC, implicando o uso de técnicas alternativas^[152]. As ureias não podem ser determinadas directamente por GC e requerem condições especiais como um arrefecimento no injector ou um processo da derivatização antes da análise^[112]. A análise directa dos pesticidas carbamatos por GC torna-se difícil porque são rapidamente degradados a compostos fenólicos e aminas durante a análise^[88].

A utilização simultânea de detectores de ultravioleta (UV) e espectrometria de massa (MS) tem sido referida em diversas aplicações. Em alguns casos, a absorvância na gama do UV-visível é frequentemente utilizada como técnica de detecção na determinação de pesticidas carbamatos. Estes pesticidas apresentam absorvância abaixo de 205 nm, neste sentido o desenvolvimento de detectores de matriz de díodos (DAD) tem constituído um avanço importante na quantificação por LC, uma vez que permite explorar toda a gama de comprimentos de ondas na gama de UV e a escolha do comprimento de onda que maximiza a sensibilidade instrumental^[131, 231, 232]. No entanto, na análise por HPLC-DAD existem problemas ao nível de interpretação dos picos que aparecem na análise de amostras reais, de flutuação da linha de base e da necessidade de confirmação dos resultados através de outra coluna e/ou detector. Desta forma a LC-MS surge como alternativa adequada quando existe a necessidade de recorrer à confirmação de resultados obtidos^[65]. A LC acoplado ao detector MS permite a quantificação de níveis muito baixos, fornece a identificação inequívoca de pesticidas termolábeis e polares^[112, 152, 154, 157] em alimentos e matrizes ambientais^[200].

O uso generalizado de pesticidas, muitas vezes de uma forma exagerada, conjuntamente com a crescente preocupação com os problemas de ordem ambiental, torna o controlo analítico destes compostos cada vez mais rigoroso e frequente. Para dar resposta a essas necessidades, os laboratórios de controlo necessitam de implementar procedimentos analíticos automáticos que reduzam substancialmente o tempo de análise e permitam quantificar um elevado número de análises por hora. A maior parte dos métodos analíticos empregues na determinação de pesticidas baseiam-se em técnicas cromatográficas^[90, 93]. No entanto estas técnicas requerem extracções e operações de limpeza e eliminação de interferentes, o que aumenta o risco de perda do analito e requerem um elevado tempo de análise^[90]. Na literatura encontram-se outros métodos para o doseamento de pesticidas em diferentes matrizes como por exemplo métodos espectrofotométricos, métodos voltamétricos, métodos amperométricos e ELISA (Ensaio por enzimas imuno-adsorvidas)^[90, 93, 163, 233, 234].

Nikolelis D. P. *et al*^[90] descreve uma técnica rápida, selectiva e sensível para a determinação do pesticida carbofurão^H em alimentos, que consiste na utilização de um filme

^H Pesticida usado neste estudo.

líquido estável ao qual foi incorporado acetilcolinesterase e o substrato é injectado num sistema FIA. Comparando com as técnicas de análise LC e GC, os biosensores apresentam a vantagem de serem métodos rápidos, económicos e quase nunca precisam de etapas de pré-tratamento das amostras^[90].

Uma vez que os estudos efectuados nos recentes anos aos pesticidas: butilato, carbofurão, carbaril, clorprofame, EPTC, etiofencarbe, linurão, metobromurão e monolinurão, em vegetais, frutos e solos, ainda não foram completamente aprofundados, o objectivo deste trabalho consiste no desenvolvimento de um método multiresíduo utilizando MAE acoplada à técnica de análise HPLC-DAD e a confirmação da presença dos resíduos de pesticidas nas amostras reais por LC-MS. No anexo V (Pág. 216 à 224) apresenta-se um resumo dos trabalhos publicados referentes à extracção e análise de pesticidas da família dos carbamatos e das ureias em produtos agrícolas e solos.

1.4. Extracção assistida por microondas

1.4.1. Considerações gerais

Na Segunda Guerra Mundial foi desenvolvido um dispositivo por cientistas britânicos que gerava microondas chamado de magnétron. O magnétron era o coração do RADAR (*Radio Detection and Ranging*), usado para detectar os aviões inimigos. Os fornos de microondas começaram a ser utilizados como processo de aquecimento de alimentos na década de 50, e a partir dos anos 70, esse tipo de energia passou a ser utilizado pelos cientistas^[244]. O primeiro forno de microondas foi patenteado em 1953, mas os modelos iniciais eram poucos práticos devido às suas dimensões (1,80 m de altura e 340 kg)^[245].

Em 1946, Percy Spencer descobriu a função do microondas como uma fonte de aquecimento. Em 1975 foi aplicado o uso do microondas às digestões ácidas nas determinações de metais por Abu-Samra *et al.* A partir deste trabalho, muitos outros foram desenvolvidos nas digestões ácidas assistidas por microondas, e posteriormente foi aprovado pelas agências reguladoras como o método de referência. A primeira extracção orgânica por microondas foi efectuada em 1986 por Ganzler *et al.*, na extracção de gorduras e nutrientes de alimentos e pesticidas no solo. Em 1992, Pare patenteou um processo designado como extracção assistida por microondas (MAE) para a extracção de óleos a partir de matrizes biológicas. No ano 2000, MAE foi aprovado pela EPA como um método de referência para a extracção de compostos

semivoláteis e não voláteis em amostras sólidas (método-3546)^[104, 246]. Nos últimos tempos, numerosos compostos têm sido extraídos de vários tipos de matrizes, nomeadamente: hidrocarbonetos poliaromáticos (PAH's), pesticidas, fenóis e compostos orgânicos de mercúrio^[107].

1.4.2. O processo de aquecimento por microondas

As microondas são radiações electromagnéticas não ionizantes, que possuem uma frequência na gama entre 300 a 300000 MHz, que corresponde a comprimentos de onda de 1 mm a 1 m. A região de microondas situa-se entre a região do infravermelho e as ondas de rádio no espectro electromagnético (fig. 29)^[245].

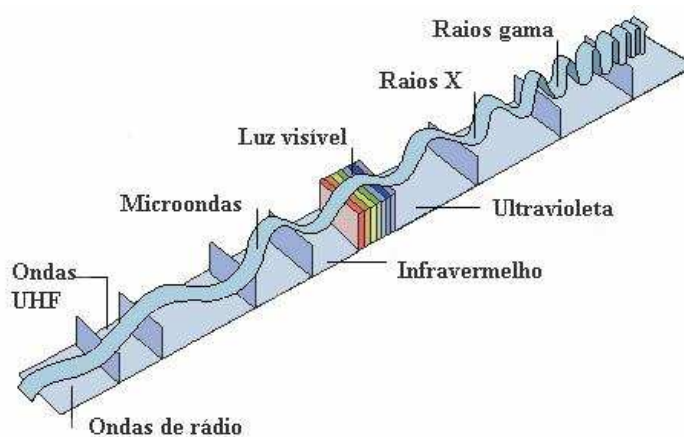


Fig. 29: Localização da região de microondas no espectro electromagnético (extraído de ^[245]).

O aquecimento por microondas é também chamado de aquecimento dieléctrico, existindo dois mecanismos principais para a transformação de energia electromagnética em calor. O primeiro mecanismo é designado por rotação de dipolo e relaciona-se com o alinhamento das moléculas (que tem dipolos permanentes ou induzidos) e o campo eléctrico aplicado. Quando o campo eléctrico é removido, as moléculas voltam a um estado desordenado, e a energia que foi absorvida para esta orientação nestes dipolos é dissipada na forma de calor. Como o campo eléctrico na frequência de 2,45 GHz oscila (muda de sinal) $4,9 \times 10^9$ vezes por

segundo, ocorre um rápido aquecimento destas moléculas. O segundo mecanismo é chamado de condução iónica. Consiste no calor gerado através de perdas de fricção e ocorre através da migração dos iões dissolvidos devido a acção de um campo electromagnético. Estas perdas dependem do tamanho, da carga, da condutividade dos iões dissolvidos e da interacção destes últimos com o solvente^[245].

A capacidade do solvente para absorver energia microondas e transferi-la em forma de calor de molécula para outras moléculas depende fortemente do factor de dissipação do solvente. O factor da perda dieléctrica (ϵ'') mede a eficiência da conversão de energia electromagnética em calor. A constante dieléctrica (ϵ') da substância é uma medida que indica a sua polaridade. Já a razão (ϵ''/ϵ'), é numericamente igual a $\tan \delta$ ($\tan \delta = \epsilon''/\epsilon'$), sendo chamada de factor de dissipação, que significa a habilidade de uma amostra converter radiação electromagnética em calor (quanto maior este valor maior é o aquecimento da substância por energia microondas)^[247]. Em geral, substâncias polares absorvem bem as radiações microondas (como a água, o acetonitrilo e o etanol) enquanto que substâncias menos polares (hidrocarbonetos alifáticos ou aromáticos) ou substâncias com momento dipolo nulo (como CCl_4 e CO_2) absorvem fracamente as radiações microondas. Substâncias como o teflon e o vidro são transparentes às microondas, enquanto os metais as reflectem^[245]. Em vasos fechados, o solvente pode ser aquecido acima do seu ponto de ebulição à pressão atmosférica aumentando a eficiência e a velocidade da extracção^[247].

Uma das principais vantagens recorrendo ao MAE é a redução do tempo de extracção, devido à diferença entre o tipo de aquecimento aplicado no aquecimento convencional e na utilização de energia microondas. Adicionalmente MAE permite uma redução significativa no consumo de solventes e a possibilidade de múltiplas extracções numa só corrida^[247].

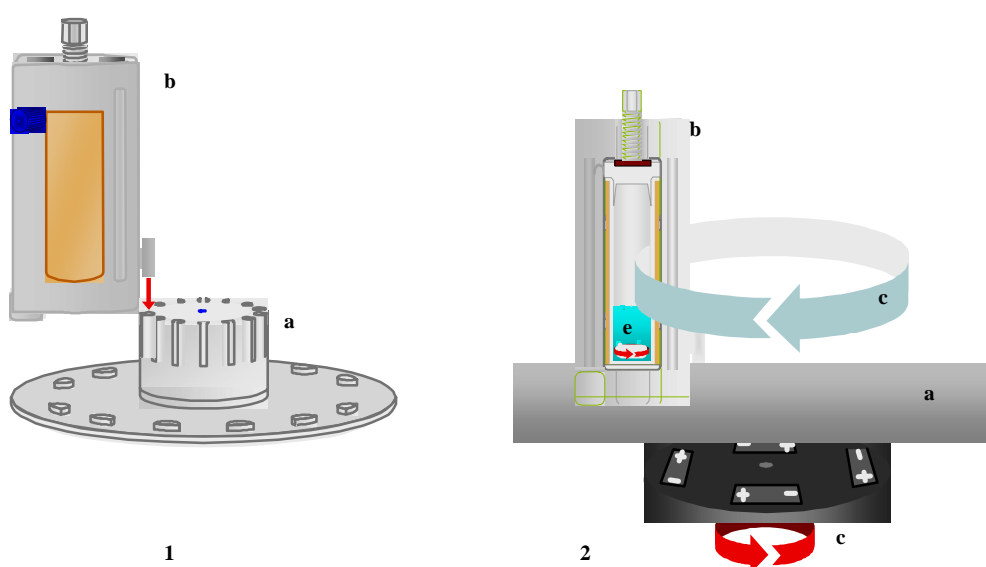
1.4.3. Constituição do equipamento para extracção assistida por microondas

Os componentes básicos de um sistema microondas incluem um gerador microondas (magnétron), um transmissor de ondas, uma cavidade ressonante, uma fonte de alimentação, um detector de solventes (que interrompe o fornecimento da radiação quando os vapores são detectados no interior da cavidade), um ventilador (que remove ar para fora da cavidade do equipamento) e um isolador (que desvia a energia microondas reflectida e não absorvida de forma a reduzir a energia microondas dentro da cavidade). Este sistema possui três comportas

de segurança e um sistema monitorizado que previne a emissão de energia quando a porta está aberta.

O sistema de microondas pode ser utilizado com os vasos abertos e os vasos fechados. Com os vasos fechados o microondas opera a temperaturas e pressões elevadas (MAE), com os vasos abertos o microondas opera à pressão atmosférica (FMASE).

Na cavidade do microondas encontra-se uma plataforma giratória designada de carrossel (fig. 30a), onde se colocam os suportes (fig. 30b) que contêm os vasos para extracção e que permite múltiplas extracções. O carrossel gira 360° (fig. 30c) durante a extracção o que permite que várias amostras possam ser processadas simultaneamente (fig. 30d).



Legenda: a) carrossel, b) suporte, c) movimento de 360 °C, d) interior do microondas com a visualização do carrossel com várias amostras para extracção e e) agitador magnético.

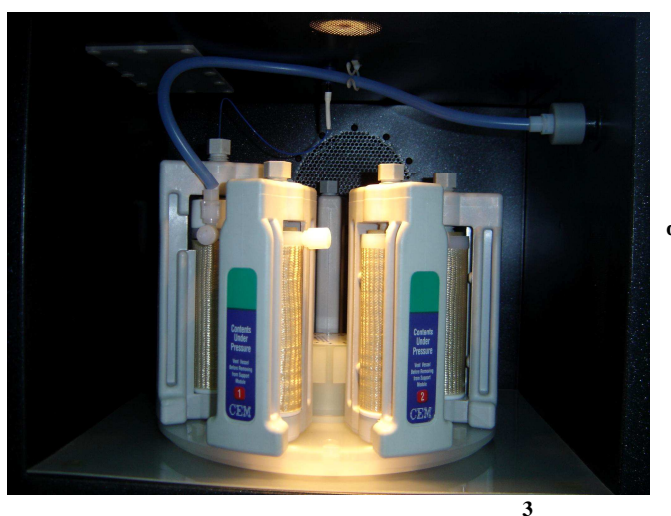


Fig. 30: Dispositivo do conjunto dos vasos dentro da cavidade do microondas (imagem 1 e 2 foram extraídas do manual do equipamento do microondas).

As amostras são colocadas em vasos (quartzo ou de teflon). Os vasos assim como os seus invólucros são construídos por um material quimicamente inerte e transparente à radiação microondas.

Este tipo de equipamento possui também a opção do uso de agitadores magnéticos (fig. 30d) em cada vaso a quatro velocidades. A agitação aumenta o contacto entre a amostra e o solvente de extracção e favorece a transferência de calor, atingindo-se a temperatura pretendida mais rapidamente, contribuindo assim para uma maior eficiência da extracção.

A pressão dentro do vaso de controlo é medida com um sensor electrónico (fig. 31a) e a sonda de temperatura (fig. 31b) é de fibra óptica. As condições da extracção como a potência a aplicar, a pressão, a temperatura, a agitação e o tempo de extracção podem ser variadas.

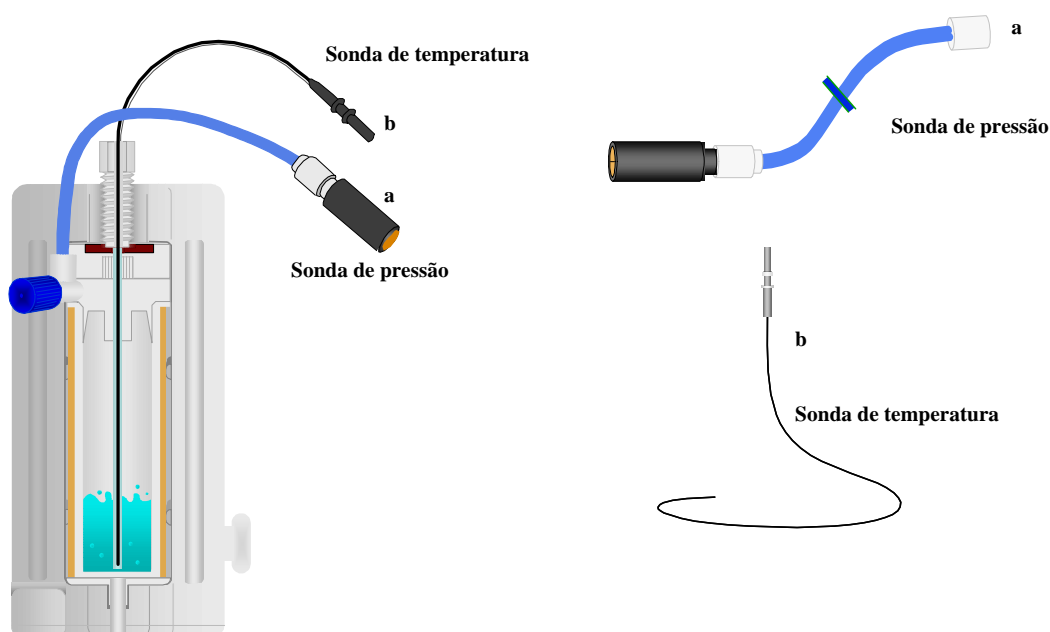


Fig. 31: Vaso controlo equipado com o sensor de temperatura e sensor de pressão (extraído do manual do equipamento do microondas).

1.4.4. Parâmetros que condicionam o processo de extracção

A eficiência da MAE é influenciada pela escolha de diversos parâmetros de extracção, nomeadamente: o solvente, a temperatura e o tempo de extracção^[104]. As condições típicas da extracção por microondas sugeridas pela EPA (EPA-3546 (2000) Método de referência para a

extracção de compostos semi-voláteis e não voláteis (PAH, PCB, organofosforados, organoclorados, triazinas, ureias, etc.))^[246] encontram-se reunidas na tabela seguinte (tab. 12).

Tab. 12: Procedimento padrão de EPA para extracção assistida por microondas (MAE) de amostras ambientais (Norma 3546) (extraído de ^[246]).

| Parâmetros de extracção | Gama de valores |
|-------------------------|------------------------------------|
| Solvente | 25 mL de hexano-acetona (1:1, v/v) |
| Temperatura | 100-150 °C |
| Pressão | 50-150 psi |
| Tempo de extracção | 10-20 minutos |

Solvente de extracção

O solvente de extracção é um parâmetro importante na optimização do processo de extracção, deve-se ter em conta as propriedades de absorção das microondas do solvente em interacção com a matriz e a afinidade do analito no solvente. Os solventes de extracção utilizados nos processos convencionais de extracção podem não ser utilizados no processo de extracção por MAE, por estes não absorverem a energia microondas^[104]. A extracção pode ser realizada de três formas:

- **Mecanismo I:** a amostra é imersa num único solvente ou numa mistura de solventes que absorvam fortemente a energia microondas^[104].
- **Mecanismo II:** a amostra é extraída com uma combinação de solventes, com diferentes capacidades de absorver energia microondas em diferentes proporções^[104].
- **Mecanismo III:** a amostra com elevada capacidade de obstruir e absorver as radiações microondas, é extraída com solventes transparentes^[104].

O volume de solvente deve ser suficiente para garantir que toda a amostra é imersa, especialmente quando a matriz aumenta de volume durante a extracção. Geralmente nas extracções convencionais quanto maior o volume de solvente utilizado maior será a recuperação, no processo de extracção por MAE este princípio nem sempre é verificado, observando que existe uma razão óptima entre o volume de solvente e a massa de amostra^[104].

Temperatura de extracção

Uma temperatura superior à temperatura de ebulição à pressão atmosférica melhora a eficiência de extracção, uma vez que a dessorção dos analitos em zonas activas da matriz irá aumentar. Adicionalmente, os solventes possuem uma maior capacidade para solubilizar analitos a temperaturas mais elevadas, enquanto a tensão da superfície e a viscosidade do solvente diminuem com a temperatura, aumenta o contacto entre o solvente e a amostra^[104].

Tempo de extracção

Elevadas recuperações foram obtidas utilizando 10 a 20 minutos como tempo de extracção. Um tempo de extracção demasiado longo pode levar à degradação de analitos termolábeis^[104].

O tempo de extracção em MAE é muito inferior quando comparado com as técnicas convencionais. O aquecimento convencional requer um determinado intervalo de tempo para aquecer o vaso antes do calor ser transferido para a solução, enquanto que a energia microondas aquecem directamente a solução. A diferença de aplicação de energia microondas e o aquecimento convencional permite uma redução elevada do tempo de extracção, permitindo analisar um maior número de amostras em menor tempo^[104].

Pressão e potência de extracção

A pressão não é um dos parâmetros mais críticos na optimização das condições de extracção por MAE. As pressões elevadas são utilizadas principalmente para permitir que se atinjam temperaturas superiores ao ponto de ebulição do solvente utilizado na extracção. É de salientar que a pressão escolhida não pode ser superior à pressão máxima suportada pelos vasos.

A escolha da potência a aplicar está relacionada com o número de vasos introduzidos no microondas, sendo tanto maior quanto maior for o número de vasos^[104].

Poucos trabalhos têm sido publicados^[88, 107, 114] relativamente à aplicação da MAE a pesticidas da família dos carbamatos e ureias, uma vez que são pesticidas termolábeis, e a degradação dos pesticidas pode ocorrer durante o processo de extracção.

Na tab. 13 apresenta-se um resumo das aplicações da MAE descritas na literatura.

Tab. 13: Métodos de extracção, aplicados às diferentes matrizes em estudo na detecção dos nove pesticidas.

| Pesticidas/família | Matriz | Parâmetros de optimização | Procedimento | Ref./Ano |
|--------------------|--------|--|---|-------------------|
| Triazinas | Solos | | <u>Massa de amostra:</u> 10 g; <u>Volume de solvente:</u> 50 mL; <u>Temperatura de extracção:</u> 95-98 °C; <u>Solventes de extracção:</u> água. | [248] 1993 |
| | Solos | | <u>Massa de amostra:</u> 10 g; <u>Volume de solvente:</u> 40 mL; <u>Tempo de extracção:</u> 10 minutos; <u>Temperatura de extracção:</u> 115 °C; <u>Solventes de extracção:</u> diclorometano-metanol (9:1, v/v). | [197] 1996 |
| | Solos | | <u>Massa de amostra:</u> 10 g; <u>Volume de solvente:</u> 20 ou 40 mL; <u>Tempo de extracção:</u> 10 minutos; <u>Temperatura de extracção:</u> 100 °C; <u>Solventes de extracção:</u> diclorometano-metanol (9:1, v/v). | [249] 1998 |
| | Solos | <u>Volume de solvente de extracção:</u> 20, 25 e 30 mL; <u>Tempo de extracção:</u> 3, 4 e 5 minutos. | <u>Massa de amostra:</u> 1 g; <u>Volume de solvente de extracção:</u> 25 mL; <u>Tempo de extracção:</u> 4 minutos; <u>Solventes de extracção:</u> água; <u>Pressão:</u> 0,5 Mpa. | [198] 1998 |
| | Solos | <u>Solvente de extracção:</u> hexano-acetona (1:1, v/v), acetona, diclorometano, água. | <u>Massa de amostra:</u> 1-4 g; <u>Volume de solvente de extracção:</u> 30 mL; <u>Tempo de extracção:</u> 4 minutos; <u>Solventes de extracção:</u> hexano-acetona (1:1, v/v) ou metanol; <u>Pressão:</u> 0,5 Mpa. | [204] 1999 |
| | Solos | <u>Solvente de extracção:</u> acetonitrilo-0,5% amónia em água (70:30, v/v); acetonitrilo; diclorometano-metanol (9:1, v/v). | <u>Massa de amostra:</u> 5g; <u>Volume de solvente de extracção:</u> 20 mL; <u>Tempo de extracção:</u> 20 minutos; <u>Temperatura de extracção:</u> 115°C; <u>Solventes de extracção:</u> diclorometano-metanol (9:1, v/v). | [200] 2004 |
| | Solos | <u>Solvente de extracção:</u> acetonitrilo-0,5% amónia em água (70:30, v/v); acetonitrilo; diclorometano-metanol (9:1, v/v). | <u>Massa de amostra:</u> 5 g; <u>Volume de solvente de extracção:</u> 20 mL; <u>Tempo de extracção:</u> 20 minutos; <u>Temperatura de extracção:</u> 110 °C; <u>Solventes de extracção:</u> acetonitrilo. | [201] 2005 |

continua

| Pesticidas/família | Matriz | Parâmetros de optimização | Procedimento | Ref./Ano |
|--------------------|-----------------------------------|---|---|-------------------|
| PAH's | Solos | <u>Solventes de extracção:</u> hexano-acetona (1:1, v/v), acetona, diclorometano. | <u>Massa de amostra:</u> 5 g; <u>Volume de solvente de extracção:</u> 40 mL; <u>Tempo de extracção:</u> 20 minutos; <u>Temperatura de extracção:</u> 120 °C; <u>Solventes de extracção:</u> acetona. | [202] 1995 |
| | Solos | | <u>Massa de amostra:</u> 5 g; <u>Volume de solvente:</u> 30 mL; <u>Temperatura de extracção:</u> 115 °C; <u>Tempo de extracção:</u> 15 minutos; <u>Solventes de extracção:</u> acetona. | [203] 1996 |
| PCB's | Solos Sedimentos | | <u>Massa de amostra:</u> 5 g; <u>Volume de solvente de extracção:</u> 30 mL; <u>Tempo de extracção:</u> 10 minutos; <u>Temperatura de extracção:</u> 115 °C; <u>Solventes de extracção:</u> hexano-acetona (1:1, v/v). | [204] 1995 |
| | Solos Sedimentos | | <u>Massa de amostra:</u> 5 g; <u>Volume de solvente de extracção:</u> 30 mL; <u>Tempo de extracção:</u> 10 minutos; <u>Temperatura de extracção:</u> 115 °C; <u>Solventes de extracção:</u> hexano-acetona (1:1, v/v). | [205] 1996 |
| | Solos | <u>Solventes de extracção:</u> hexano-acetona (1:1, v/v); metanol e hidróxido de potássio 1M metanólico. | <u>Massa de amostra:</u> 5-15 g; <u>Volume de solvente de extracção:</u> 30 mL; <u>Tempo de extracção:</u> 6 minutos; <u>Solventes de extracção:</u> hidróxido de potássio 1M metanólico; <u>Pressão:</u> 0,5 Mpa. | [206] 2000 |
| | Resíduos sólidos de incineradoras | <u>Solventes de extracção:</u> hexano-acetona (1:1, v/v); tolueno-acetona (1:1, v/v), tolueno-água (1:1, v/v) diclorometano e metanol. <u>Volume de solvente:</u> 15, 20, 30 mL. | <u>Massa de amostra:</u> 3 g; <u>Volume de solvente de extracção:</u> 15-30 mL; <u>Tempo de extracção:</u> 15 minutos; <u>Temperatura de extracção:</u> 120 °C; <u>Solventes de extracção:</u> 30 mL de tolueno-acetona (1:1, v/v) ou 15 mL de tolueno. | [207] 2006 |
| | Solos Sedimentos | | <u>Massa de amostra:</u> 5 g; <u>Volume de solvente de extracção:</u> 20 mL; <u>Tempo de extracção:</u> 10 minutos; <u>Temperatura de extracção:</u> 115 °C; <u>Solventes de extracção:</u> hexano-acetona (1:1, v/v). | [208] 2006 |

continua

| Pesticidas/família | Matriz | Parâmetros de optimização | Procedimento | Ref./Ano |
|--------------------|--|--|--|-------------------|
| Organoclorados | Plantas Medicinais | | <u>Massa de amostra:</u> 1 g; <u>Volume de solvente de extracção:</u> 25 mL; <u>Tempo de extracção:</u> 10 minutos; <u>Solventes de extracção:</u> água destilada; <u>Pressão:</u> 110 psi; <u>Potência:</u> 80 %. | [209] 2001 |
| | Plantas | | <u>Massa de amostra:</u> 0,3 g; <u>Volume de solvente de extracção:</u> 10 mL; <u>Tempo de extracção:</u> 12 minutos; <u>Solventes de extracção:</u> hexano-acetona (1:1, v/v). | [210] 2003 |
| | | <u>Solventes de extracção:</u> hexano-acetona (1:1, v/v), hexano-acetato de etilo (1:1, v/v). | <u>Massa de amostra:</u> 1 g; <u>Volume de solvente de extracção:</u> 15 mL; <u>Temperatura de extracção:</u> 90 °C; <u>Tempo de extracção:</u> 10 minutos; <u>Solventes de extracção:</u> hexano-acetona (1:1, v/v). | [211] 2003 |
| | Alface Pepino Tomate Espinafre Batatas | | <u>Massa de amostra:</u> 0,3 g; <u>Volume de solvente de extracção:</u> 15 mL; <u>Tempo de extracção:</u> 12 minutos; <u>Solventes de extracção:</u> hexano-acetona (1:1, v/v). | [212] 2005 |
| | Sedimentos | <u>Massa de amostra:</u> 0,5; 0,75 e 1 g; <u>Tempo de extracção:</u> 5, 10 e 15 minutos; <u>Temperatura de extracção:</u> 60, 90 e 120 °C; <u>Volume de solvente:</u> 10, 25 e 40 mL; <u>Potência:</u> 20, 60 e 100 %; | <u>Massa de amostra:</u> 1 g; <u>de extracção:</u> 15 minutos; <u>Temperatura de extracção:</u> 120 °C; <u>Volume de solvente:</u> 40 mL; <u>Solvente de extracção:</u> hexano-acetona (1:1, v/v); <u>Potência:</u> 20 %. | [213] 2006 |
| | Sementes de Sésamo | | <u>Massa de amostra:</u> 5 g; <u>Volume de solvente de extracção:</u> 40 mL; <u>Tempo de extracção:</u> 10 minutos; <u>Temperatura de extracção:</u> 100 °C; <u>Solventes de extracção:</u> água-acetonitrilo (5:95, v/v). | [214] 2006 |
| | Solos | | <u>Massa de amostra:</u> 5 g; <u>Volume de solvente de extracção:</u> 20 mL; <u>Tempo de extracção:</u> 10 minutos; <u>Temperatura de extracção:</u> 115 °C; <u>Solventes de extracção:</u> hexano-acetona (1:1, v/v). | [215] 2006 |

continua

| Pesticidas/família | | Matriz | Parâmetros de otimização | Procedimento | Ref./Ano |
|----------------------|-------------|---|--|--|----------|
| PAH´s | | Sedimentos Solos | <u>Temperatura de extracção:</u> 80, 115 e 145 °C; <u>Tempo de extracção:</u> 5, 10 e 20 minutos; <u>Solventes de extracção:</u> hexano-acetona (1:1, v/v); tetracloroetileno, clorometileno-acetona (1:1, v/v), tolueno-metanol (10:1, v/v); e clorometileno. | <u>Massa de amostra:</u> 5 g; <u>Volume de solvente de extracção:</u> 30 mL; <u>Tempo de extracção:</u> 5 minutos; <u>Temperatura de extracção:</u> 115 °C; <u>Solventes de extracção:</u> hexano-acetona (1:1, v/v). | [216] |
| Organoclorados | | | | | 1994 |
| Fenóis | | | | | |
| Organoclorados | | Solos | | <u>Massa de amostra:</u> 5 g; <u>Volume de solvente de extracção:</u> 30 mL; <u>Tempo de extracção:</u> 10 minutos; <u>Temperatura de extracção:</u> 115 °C; <u>Solventes de extracção:</u> hexano-acetona (1:1, v/v). | [217] |
| Organofosforados | | | | | 1995 |
| Organoclorados | | | | | |
| PAH´s | | | | | |
| PCB´s | | | | | |
| Aditivos alimentares | Veltol | Batatas Fritas Gomas | | <u>Massa de amostra:</u> 1 g; <u>Volume de solvente de extracção:</u> 100 mL; <u>Tempo de extracção:</u> 10 minutos; <u>Temperatura de extracção:</u> 100 °C; <u>Solventes de extracção:</u> água; <u>Pressão:</u> 100 psi. | [218] |
| | Veltol-Plus | | | | 1997 |
| Organoclorados | | Beterraba Alface Pepino Pimentos Tomate | <u>Temperatura de extracção:</u> 80, 100 e 120 °C; <u>Tempo de extracção:</u> 10 e 20 minutos. | <u>Massa de amostra:</u> 10 g; <u>Tempo de extracção:</u> 10 minutos; <u>Temperatura de extracção:</u> 100 °C; <u>Solventes de extracção:</u> 10 mL de 2-propanol, 20 mL de éter de petróleo. | [219] |
| Organofosforados | | | | | 1997 |
| Hidrocarbonetos | | Sedimentos | | <u>Massa de amostra:</u> 2-10 g; <u>Volume de solvente:</u> 6 a 30 mL de tolueno e 1 mL de água; <u>Tempo de extracção:</u> 12 minutos; <u>Solventes de extracção:</u> tolueno, água. | [220] |
| Sulfonilureias | | Solos | | <u>Massa de amostra:</u> 10 g; <u>Volume de solvente:</u> 20 mL <u>Temperatura de extracção:</u> 60 °C; <u>Tempo de extracção:</u> 10 minutos; <u>Solventes de extracção:</u> diclorometano-metanol (9:1, v/v). | [195] |
| | | | | | 1998 |

continua

| Pesticidas/família | | Matriz | Parâmetros de optimização | Procedimento | Ref./Ano |
|--|----------------------------------|--------|---|--|-------------------|
| Fenilureias | <u>Monolinurão</u> ^I | Solos | <u>Temperatura de extracção</u> :40, 60, 70, 80 e 100 °C; <u>Solventes de extracção</u> : diclorometano-água (5:1, v/v); diclorometano-água (9:1, v/v); metanol-água (7:3, v/v) e metanol-água (9:1, v/v). | <u>Massa de amostra</u> : 5 g; <u>Volume de solvente de extracção</u> : 30 mL; <u>Tempo de extracção</u> : 4 minutos; <u>Temperatura de extracção</u> : 70°C; <u>Solventes de extracção</u> : diclorometano-água (9:1, v/v). | [114] |
| | <u>Metobromurão</u> ^I | | | 2000 | |
| | <u>Linurão</u> ^I | | | | |
| Imidazolinones | | Solos | | <u>Massa de amostra</u> : 1 g; <u>Volume de solvente de extracção</u> : 20 mL; <u>Tempo de extracção</u> : 10 minutos; <u>Temperatura de extracção</u> : 60 °C; <u>Solventes de extracção</u> : tampão fosfato pH=8. | [250] |
| Defenilesteres | | | | | 2000 |
| Sulfonilureias | | | | | |
| Ariloxifenoxipropionico | | | | | |
| Triazoloprimidina | | | | | |
| Defenilesteres | | | | | |
| Sulfonanilidas | | | | | |
| Atrazina Clorpirifos Fenanifos metadatião | | Solos | | <u>Massa de amostra</u> : 1,5-2,5 g; <u>Volume de solvente</u> : 10 mL; <u>Temperatura de extracção</u> : 90 °C; <u>Tempo de extracção</u> : 9 minutos; <u>Solventes de extracção</u> : hexano-acetona (1:1, v/v). | [221] 2000 |
| Benzotiadiazole | | Solos | | <u>Massa de amostra</u> : 10 g; <u>Volume de solvente de extracção</u> : 20 mL; <u>Tempo de extracção</u> : 10 minutos; <u>Temperatura de extracção</u> : 60 °C; <u>Solventes de extracção</u> : diclorometano-metanol (9:1, v/v); <u>Pressão</u> : 690 kPa. | [222] |
| Hidroxibenzonitrilo | | | | | 2001 |
| Sulfonilureias | | | | | |
| Ácido fenoxi | | | | | |
| Carbamatos | <u>Clorprofame</u> ^I | Solos | <u>Solventes de extracção</u> : hexano-acetona (1:4, v/v); hexano-acetona (1:1, v/v); hexano-acetona (4:1, v/v); diclorometano e metanol e água. | <u>Massa de amostra</u> : 2 g; <u>Volume de solvente de extracção</u> : 30 mL; <u>Tempo de extracção</u> : 6 minutos para PAH´s, PCB´s e carbamatos; 4 minutos para triazinas; <u>Temperatura de extracção</u> : 115 °C para PHA´s , PCB´s e triazinas e 95 °C para os carbamatos; <u>Solventes de extracção</u> : metanol, hexano-acetona (1:4, v/v) e hexano-acetona (1:1, v/v). | [107] |
| PBC´s | | | | | 2002 |
| PAH´s | | | | | |
| Triazinas | | | | | |

continua

^I Pesticida usado neste estudo.

| Pesticidas/família | | Matriz | Parâmetros de otimização | Procedimento | Ref./Ano |
|---|---------------------------------|--------------------|---|---|-------------------|
| Triazinas | | Solos | | <u>Massa de amostra:</u> 5 g; <u>Volume de solvente de extracção:</u> 20 mL; <u>Tempo de extracção:</u> 5 minutos; <u>Temperatura de extracção:</u> 80°C; <u>Solventes de extracção:</u> acetonitrilo. | [223] |
| Cloroacetanilidas | | | | | 2002 |
| Herbicida ácido fenoxialcanoico e os produtos de degradação | | Solos | <u>Volume de solvente de extracção:</u> 30, 40, 50 e 60 mL; <u>Temperatura de extracção:</u> 40, 60, 80, 100 e 120 °C | <u>Massa de amostra:</u> 10g; <u>Volume de solvente de extracção:</u> 50 mL; <u>Tempo de extracção:</u> 10 minutos; <u>Temperatura de extracção:</u> 80°C; <u>Solventes de extracção:</u> tampão fosfato 10 mM (pH=7)-metanol (50:50, v/v). | [224] 2002 |
| Cimoxanil Simazina | | Solos | | <u>Massa de amostra:</u> 5g; <u>Volume de solvente de extracção:</u> 10 mL; <u>Tempo de extracção:</u> 5bminutos; <u>Temperatura de extracção:</u> 90°C; <u>Solventes de extracção:</u> acetonitrilo. | [225] 2002 |
| Carbamatos | <u>Clorprofame</u> ^J | Solos | <u>Volume de solvente de extracção:</u> 10, 20, 30 e 40 mL; <u>Tempo de extracção:</u> 4, 6, 8 e 10 minutos; Temperatura de extracção: 40, 60, 80 e 100 °C <u>Solventes de extracção:</u> hexano-acetona (1:1, v/v); diclorometano; metanol e acetona. | <u>Massa de amostra:</u> 2 g; <u>Volume de solvente de extracção:</u> 30 mL; <u>Tempo de extracção:</u> 6 minutos; <u>Temperatura de extracção:</u> 80 °C; <u>Solventes de extracção:</u> metanol. | [88] 2003 |
| Compostos fenólicos | | Folhas de oliveira | <u>Tempo de extracção:</u> 5 a 15 minutos; <u>Solvente de extracção:</u> etanol-água (80: 20, v/v); etanol-água (90:10, v/v) e etanol. | <u>Massa de amostra:</u> 1 g; <u>Volume de solvente de extracção:</u> 8 mL; <u>Tempo de extracção:</u> 8 minutos; <u>Solventes de extracção:</u> etanol-água (80:20, v/v). | [226] 2006 |

^J Pesticida usado neste estudo.

1.5. Caso particular da análise de pesticidas por MAE

Da pesquisa efectuada encontraram-se três artigos que auxiliaram o presente trabalho de investigação. Os autores combinaram a extracção por MAE com a técnica de HPLC-UV para a análise de pesticidas da família das ureias^[114] e do grupo dos carbamatos^[88, 107]. O estudo efectuado neste projecto engloba a extracção em simultâneo das duas famílias de pesticidas.

Molins C. *et al* (2000)^[114] utilizaram a MAE acoplada à análise por HPLC com detecção por UV, a um comprimento de onda 244 nm, na determinação de herbicidas da família das fenilureias (linurão^K, monurão, monolinurão^K, isoproturão, metobromurão^K e o diurão) em diferentes tipos de solos. A quantificação dos pesticidas foi efectuada recorrendo a uma curva de calibração na gama de 10,0 a 100 µg/L. O estudo envolveu a optimização das condições de extracção, variando a temperatura (40, 60, 70, 80, e 100 °C) e os solventes de extracção (diclorometano, diclorometano-água (5:1); diclorometano-metanol (9:1, v/v); metanol-água (7:3, v/v); metanol-água (9:1, v/v)). As condições mais adequadas de extracção foram obtidas para a temperatura de 70 °C durante 10 minutos de extracção usando como solvente a mistura diclorometano-metanol (9:1, v/v). O metanol e a água foram testados pelos autores devido à compatibilidade com a LC. O método permitiu a obtenção de recuperações na gama de 80 a 120 % (com CV < 12 %) nas amostras extraídas após 1 dia da contaminação para os níveis de fortificação de 10 µg/kg (n=9) e 50 µg/kg (n=7) e recuperações de 41 a 113 % (CV de 1 a 35 %) para solos analisados após 40 dias de contaminação para o nível de 100 µg/kg (n=7). Pela primeira vez, os autores evidenciaram as vantagens da utilização de MAE como uma técnica eficiente e rápida para a extracção de pesticidas do grupo das fenilureias em diferentes tipos de solos. A maior parte dos herbicidas estudados por Molins C. *et al* podem ser analisados a um nível de concentração de 10 µg/kg.

Sun L. *et al*^[107] propuseram a extracção de cinco pesticidas da família dos carbamatos (propoxur, tiurame, profame, metiocarbe e clorprofame^K) em amostras de solos. Estas foram contaminadas com uma concentração individual de cada carbamato de 4 µg/kg. As extracções foram realizadas a uma temperatura de 95 °C durante 6 minutos. Os solventes de extracção estudados foram o metanol, a acetona, o diclorometano, a água e as misturas: hexano-acetona (1:4, v/v), hexano-acetona (1:1, v/v), hexano-acetona (4:1, v/v). Para todos os pesticidas, o metanol permitiu a obtenção de recuperações mais elevadas. Estes autores alargaram o estudo à extracção de poluentes polares e não polares como os PAH's, PCB's, carbamatos (propoxur, metiocarbe, clorprofame^K), a 115 °C durante 6 minutos, e triazinas (atrazina, simazina), a

^K Pesticida usado neste estudo.

115 °C durante 4 minutos. Utilizaram os solventes de extracção: o metanol, o diclorometano e a mistura hexano-acetona (1:1, v/v). Elevadas recuperações, de 70 a 99 %, foram conseguidas para os PCB's e os pesticidas triazinas com todos os solventes de extracção. Para os pesticidas carbamatos baixas recuperações, de 5,2 a 80 %, foram obtidas devido à elevada temperatura de extracção utilizada (115 °C), promovendo a degradação destes pesticidas. Relativamente aos PAH's (60 %) baixas recuperações foram obtidas utilizando o metanol como solvente de extracção devido à baixa solubilidade destes poluentes em metanol.

Na continuação do trabalho publicado em 2002, Sun L. *et al* (2003)^[88], compararam técnicas como a MAE e a SFE para a extracção de pesticidas carbamatos (propoxur, profame, metiocarbe e clorprofame^L) em solos. Também neste estudo, as determinações foram efectuadas por HPLC com detecção por UV. Os autores procederam à optimização dos diversos parâmetros de extracção, nomeadamente, o solvente (metanol, diclorometano, hexano-acetona (1:1, v/v) e acetona), a temperatura (40, 60, 80 e 100 °C), o tempo de extracção (4, 6, 8 e 10 minutos) e o volume do solvente de extracção (10, 20, 30 e 40 mL). As condições óptimas de extracção foram obtidas com 30 mL de metanol a 80 °C durante 6 minutos. Os carbamatos foram extraídos com sucesso do solo com recuperações entre 85 a 105 % ($\approx 4,9$ % RSD).

As condições de extracção utilizadas pelos autores usando a SFE foram uma temperatura de 60 °C, 30 minutos e dióxido de carbono supercrítico a 300 kg/cm² com 10 % de metanol (v/v) como solvente de extracção. A composição do fluido supercrítico demonstrou ser crucial no rendimento da extracção. Obtiveram valores elevados de recuperações, de 87 a 98 %, excepto para o pesticida profame (66%).

Os autores concluíram que a MAE e a SFE são excelentes técnicas de extracção de pesticidas carbamatos em solos promovendo a obtenção de recuperações superiores a 85 %.

Não é do conhecimento dos autores deste trabalho que tenham sido publicados estudos que refiram a extracção em simultâneo dos pesticidas carbamatos e ureias em diferentes matrizes. Relativamente às matrizes de vegetais e frutos (tomate), apenas foram encontrados dois artigos que relatam a extracção de pesticidas organoclorados^[212, 219] e organofosforados^[219] baseando-se na técnica de extracção MAE acoplada à análise por GC.

^L Pesticida usado neste estudo.

2. MATERIAIS E MÉTODOS

A parte experimental deste estudo englobou: i) a caracterização físico-química das matrizes estudadas; ii) desenvolvimento de uma metodologia de extracção por MAE e análise cromatográfica por HPLC-DAD, para a quantificação dos pesticidas em estudo em: ii_a) solos com características físico-químicas significativamente diferentes, e ii_b) vegetais (batata, cenoura, cebola e repolho) e um fruto (tomate); iii) análise de diferentes tipos de tomate em vários estados de maturação e análise de derivados de tomate por HPLC-DAD e LC-MS.

2.1. Reagentes

Em todo o trabalho usou-se água de qualidade ultra-pura (resistividade de 18,2 MΩ/cm), obtida por purificação de água desionizada (condutividade inferior a 0,1 µS/cm), num sistema da marca Millipore.

Os pesticidas analisados foram: carbofurão (Riedel-de Haën, grau de pureza de 99,9 %), carbaril (Riedel-de Haën, grau de pureza de 99,7 %), etiofencarbe (Riedel-de Haën, grau de pureza de 97,4 %), monolinurão (Riedel-de Haën, grau de pureza de 99,9 %), metobromurão (Riedel-de Haën, grau de pureza de 99,9 %), linurão (Riedel-de Haën, grau de pureza de

99,7 %), clorprofame (Riedel-de Haën, grau de pureza de 98 %), EPTC (Riedel-de Haën, grau de pureza de 98 %) e butilato (Riedel-de Haën, grau de pureza de 99,2 %).

Todos os reagentes usados eram reagentes de qualidade *p.a.* ou superior, sem qualquer purificação adicional. Os solventes utilizados foram: acetonitrilo (Carlo ERBA, grau de pureza > 99,9 %) usado como eluente e solvente de extracção; diclorometano (Panreac PA, grau de pureza 99,5 %), metanol (Lichrosolv®, grau de pureza mínimo 99,8 %), acetona (Panreac PA, grau de pureza 99,5 %) e hexano (Chromasol®, grau de pureza mínimo 97 %) usados como solventes de extracção.

Todos os reagentes necessários na determinação da matéria orgânica foram: dicromato de potássio (Merck, grau de pureza 99,9 %), sulfato de amónio e ferro (II) hexahidratado (Riedel-de Haën, grau de pureza 99 %), ácido sulfúrico (Fluka, Riedel-de Haën, grau de pureza 95-97 %) e ácido orto-fosfórico 85 % (Panreac PA, grau de pureza 85 %).

Usou-se sulfato de sódio anidro (Panreac PA, grau de pureza 99 %) na remoção da água presente nas amostras de vegetais e tomate antes da extracção por microondas.

Todas as soluções padrão de pesticidas foram preparadas por pesagem rigorosa em balança electrónica de alta precisão (Sartorius BP 211D) da substância pura e dissolução em acetonitrilo a uma concentração de cerca de 1 g/L (solução mãe₁). De cada solução mãe₁ foram preparadas por diluição outras soluções (solução mãe₂) de concentração mais baixas em acetonitrilo para cada pesticida. Preparam-se diariamente soluções de padrão misto, em acetonitrilo por diluição de volumes rigorosos de cada uma das soluções individuais (solução mãe₂). A curva de calibração foi obtida pela injeccção de soluções padrão misto na gama de concentração entre 10,0 a 500 µg/L em cada pesticida. Todas as soluções foram etiquetadas (nome do composto, concentração, solvente utilizado e data de preparação) e guardadas em frascos de vidro escuro a -18 °C.

Nos ensaios de recuperação as contaminações foram efectuadas pela adição de um volume medido rigorosamente (1 mL) de solução padrão misto, contendo os nove pesticidas, com concentrações entre 150-350 µg/L (30,0-70,0 µg/kg) para os solos e 16,7-334 µg/L (10,0-200 µg/kg) para o tomate.

Nas medições de volume das soluções padrão foram utilizadas micropipetas 2-20 µL (Gilson), 30-200 µL (Gilson), 200-1000 µL (Gilson) e 1000-5000 µL (Gilson).

O material de vidro utilizado foi lavado com solução de detergente By-Prox, passado por água corrente, água destilada, e finalmente com água ultra-pura e seco em estufa a 55 °C Raypa® Trade.

2.2. Amostragem e conservação das amostras

A pesquisa de resíduos de produtos fitossanitários foi realizada num conjunto de amostras provenientes de várias regiões de Portugal e Espanha, atribuindo-lhe uma numeração específica para a sua identificação, como se pode verificar na tab. 14 (Pág. 82 à 83). A letra e os dígitos que compõem o código de identificação das amostras têm o significado seguinte:





- A **letra designa** a amostra a analisar (**T**-tomate, **B**-batata, **Ce**-cenoura, **Cb**-cebola, **R**-repolho).
- O **primeiro dígito** corresponde ao local da compra (**1**-pequeno agricultor, **2**-médio agricultor, **3**-grande agricultor, **4**-mini-mercado, **5**-supermercado, **6**-hipermercado);
- O **último dígito** corresponde ao estado de amadurecimento da amostra (**1**-verde, **2**-em amadurecimento de cor laranja a amarela, **3**-maduro de cor vermelha).

A amostragem foi efectuada de acordo com a Directiva 2002/63/CE da Comissão de 11 de Julho de 2002^[145], descrita na introdução e referenciada na tab. 9 no subcapítulo 1.3.1. de processos de amostragem e de conservação da amostra no capítulo da introdução.







As amostras de vegetais e tomate foram catalogadas, trituradas e imediatamente analisadas. Foram recolhidas uma amostra de cada vegetal (batata, cenoura, cebola e repolho), vinte e oito amostras de tomate fruto e seis amostras de tomate transformado.

Recolheram-se os diferentes solos para um frasco de plástico limpo, etiquetou-se e colocou-se os frascos no frigorífico. Procedeu-se à homogeneização e ao quarteamento de modo a obter uma porção representativa do todo, antes de retirar uma toma para extracção. Foram estudados dois tipos de solos com características físico-químicas diferentes, sendo classificados como solo do tipo I e solo do tipo II.

Tab. 14: Identificação das amostras de tomate (fruto e transformado) analisadas.

| Amostra | Proveniência | Local de Compra | | Estado de maturação | Designação |
|---|--------------------------|---------------------|------------------------------------|---------------------|--|
| T-tomate Marmande  | Maia-Portugal | Médios Agricultores | Feira Senhora da Hora | Maduro | T _{Marmande} -2-3-Maia |
| | | | | | |
| T-tomate Roma VF  | Maia-Portugal | Médios Agricultores | Feira Senhora da Hora | Amadurecer | T _{Roma VF} -2-2-Maia |
| | | | | Maduro | T _{Roma VF} -2-3-Maia |
| T-tomate Rama  | Almería-Espanha | Supermercado | Froiz | Maduro | T _{Rama} -5-3-Almería |
| | Maia-Portugal | Médios Agricultores | Feira Senhora da Hora | Verde | T _{Rama} -2-1-Maia |
| | | | | Amadurecer | T _{Rama} -2-2-Maia |
| | | | | Maduro | T _{Rama} -2-3-Maia |
| | Coimbra-Portugal | Minimercado | Loja do Senhor Manuel-Amial | Maduro | T _{Rama} -4-3-Coimbra |
| | Norte Portugal | Supermercado | Froiz | Verde | T _{Rama} -5-1-Norte de Portugal |
| | | | | Amadurecer | T _{Rama} -5-2-Norte de Portugal |
| | | | | Maduro | T _{Rama} -5-3-Norte de Portugal |
| | Portugal | Hipermercado | Continente | Verde | T _{Rama} -6-1-Portugal |
| | | | | Amadurecer | T _{Rama} -6-2-Portugal |
| | | | | Maduro | T _{Rama} -6-3-Portugal |
| | Póvoa de Varzim-Portugal | Minimercado | Supermercado Lampião Azul-Paranhos | Verde | T _{Rama} -4-1-Póvoa de Varzim |
| | | | | Amadurecer | T _{Rama} -4-2-Póvoa de Varzim |
| | | | | Maduro | T _{Rama} -4-3-Póvoa de Varzim |
| T-tomate Cherry  | Andaluzia-Espanha | Supermercado | Froiz | Amadurecer | T _{Cherry} -5-2-Andaluzia |
| | | | | Maduro | T _{Cherry} -5-3-Andaluzia |

Continua

| Amostra | Proveniência | Local de Compra | | Estado de maturação | Designação |
|---|-------------------|--------------------|-------------------------------|---------------------|---|
| T-tomate Coração de Boi  | V.N.Gaia-Portugal | Pequeno agricultor | Senhor João | Verde | T _{Coração de Boi} -1-1-V.N.Gaia |
| | | | | Amadurecer | T _{Coração de Boi} -1-2-V.N.Gaia |
| | | | | Maduro | T _{Coração de Boi} -1-3-V.N.Gaia |
| | Coimbra-Portugal | Minimercado | Loja do Senhor Manuel - Amial | Verde | T _{Coração de Boi} -4-1-Coimbra |
| | | | | Amadurecer | T _{Coração de Boi} -4-2-Coimbra |
| | | | | Verde | T _{Coração de Boi} -4-3-Coimbra |
| T-tomate Chucha  | Portugal | Hipermercado | Continente | Maduro | T _{Chucha} -6-3-Portugal |
| | Coimbra-Portugal | Minimercado | Loja do Senhor Manuel - Amial | Verde | T _{Chucha} -4-1-Coimbra |
| | | | | Amadurecer | T _{Chucha} -4-2-Coimbra |
| | | | | Maduro | T _{Chucha} -4-3-Coimbra |
| B-batata  | V.N.Gaia-Portugal | Pequeno agricultor | Senhor João | | B-V.N.Gaia |
| Cb-cebola  | V.N.Gaia-Portugal | Pequeno agricultor | Senhor João | | Cb-V.N.Gaia |
| Ce-cenoura  | V.N.Gaia-Portugal | Pequeno agricultor | Senhor João | | Ce-V.N.Gaia |
| R-repolho  | V.N.Gaia-Portugal | Pequeno agricultor | Senhor João | | R-V.N.Gaia |

2.3. Equipamento

As medições de pH, humidade e matéria orgânica foram efectuadas num medidor de pH *Gilson GPL 22*, numa estufa *Selecta P*, e num digestor *Tecator Digestor 2006*, respectivamente.

Os pesticidas foram extraídos das matrizes utilizando um microondas *Microwave Accelerated Reaction System for Extraction MARS-X*, 1500 W (CEM, *Mathews*, NC, USA). A matriz para extracção é colocada num vaso de vidro *GreenChem Plus* resistente a temperatura e pressão elevadas. O contacto da matriz com o solvente de extracção é efectuado por um agitador de PVC. O vaso é colocado dentro de uma manga resistente (de um compósito) e no topo do vaso é encaixado uma tampa de teflon® PFA. O vaso, a manga e a tampa são colocado num suporte de polipropileno w/TFM®. O conjunto é fechado com o auxílio de uma chave de parafusos Utica 19 mm efectuando um movimento rotativo num parafuso de polipropileno w/TFM® situado na parte superior do suporte. A válvula de pressão é de teflon® PFA.

No interior do microondas encontra-se um carrossel onde se colocam os suportes que contêm os vasos de extracção, respectivamente.

O controlo de temperatura e pressão é efectuado por uma sonda de temperatura RTP-300 *Plus* e uma sonda de pressão ESP-1500 *Plus*.

Após a extracção no microondas o extracto é filtrado utilizando uma bomba de vácuo *DINKO D-95*, um kitasato de vidro de 250 mL e um sistema de filtração de vidro com capacidade de 250 mL. Foram utilizados filtros whatman GF/C.

O filtrado obtido foi evaporado até à secura num rotavapor *Büchi B-490*, sem que a temperatura do banho ultrapassasse os 40 °C. Ligada ao rotavapor a bomba de teflon *Büchi Vac® V-500*, permite regular através de um manómetro a pressão de vácuo adequada à evaporação dos solventes de extracção.

O resíduo foi redissolvido em 1 mL de acetonitrilo, e posteriormente filtrado através de filtros *Macherey-Nagel*, chromafil® O-20/15MS, de porosidade 0,20 µm antes de injeção na HPLC.

Os eluentes usados na HPLC foram filtrados através de um sistema de filtração de vidro de capacidade de 250 mL, para um kitasato de vidro de 1 L, com o auxílio de uma bomba de vácuo *DINKO D-95*.

As análises por HPLC foram efectuadas num equipamento da *Waters*, *Alliance HT*, *Hucoa Erloss*, equipado com dois detectores: o detector DAD *Waters 2996* e o detector massas MS *Waters micromass ZQ 4000*.

Os dados cromatográficos foram adquiridos e tratados pelo programa *Empower*.

As separações cromatográficas foram efectuadas numa coluna *Waters Spherisorb*® 5µm ODS2 (4,6x250mm), a coluna manteve-se à temperatura constante de 30 °C. A linearidade da resposta do detector DAD foi avaliada por injeção directa de 40 µL (*Loop* de 50 µL) das soluções padrão, tendo sido traçadas curvas de calibração para cada um dos compostos.

A LC-MS permite além da separação e análise dos compostos da amostra, a confirmação da identidade e peso molecular dos compostos pelos fragmentos gerados no detector de massas. A evaporação do solvente é efectuada por intermédio de um fluxo de gás azoto em contra corrente. O azoto com pureza < 99,5 % ($\leq 0,5\% \text{ O}_2$), fluxo 25 L/min, pressão de trabalho de 7 bar (máximo), é gerado num sistema constituído por: um gerador de azoto *Gasman* e um compressor da *Atlas Copco* SF2-10EUR 400 50 DOL 3PH. Uma bomba de vácuo *Edwards* 28, na LC permite o vácuo em todo o sistema.

A coluna *Atlantis*™ dc18, 5µm (2,1mm x 150mm) foi utilizada para a confirmação dos picos interferentes da matriz do tomate e identificação dos picos dos pesticidas. A coluna manteve-se à temperatura constante de 30 °C.

2.4. Procedimento

Neste subcapítulo serão descritos os procedimentos relativos à preparação da amostra, à caracterização das matrizes, à pesagem da matriz e etapa de extracção, à filtração dos extractos obtidos após extracção por MAE, à evaporação do solvente de extracção, ao ensaio de recuperação e à análise cromatográfica na detecção, identificação e quantificação dos pesticidas em estudo.

2.4.1. Preparação da amostra

Nos vegetais e tomate, efectuou-se a trituração da totalidade da amostra sem a separação da casca ou do conteúdo através de uma trituradora Moulinex.

Nos solos, procedeu-se à homogeneização e ao quarteamento antes da extracção.

Na análise das amostras reais foram retiradas três tomas de cada amostra para extracção, sendo posteriormente cada um dos extractos injectados três vezes.

Na fig. 32, pode-se observar as etapas da trituração do tomate para posterior extracção no microondas, obtendo desta forma uma amostra homogénea. Este procedimento foi igualmente adoptado na trituração dos vegetais estudados.

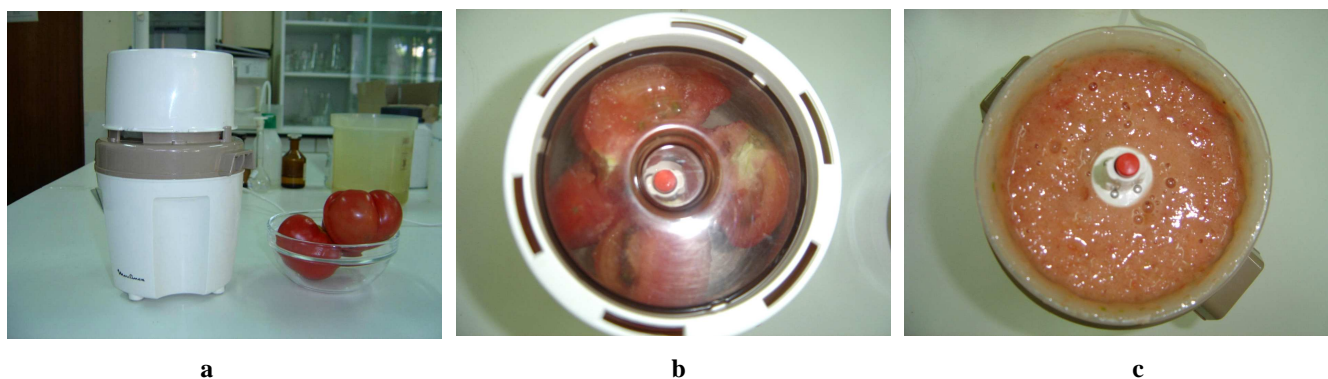


Fig. 32: Trituração do tomate para posterior extracção no microondas: **a)** picadora e o tomate a analisar, **b)** tomate na picadora antes da trituração e **c)** tomate triturado.

2.4.2. Caracterização das matrizes

O pH, a humidade, o teor de carbono orgânico, o teor natural de matéria orgânica e a densidade foram os parâmetros avaliados na caracterização das matrizes.

2.4.2.1. Determinação do pH

SOLOS

A determinação do pH consistiu na leitura do pH com um eléctrodo de vidro da solução sobrenadante após repouso, resultante da mistura de 50 g de solo com 50 mL de água desionizada, após 15 minutos de agitação^[251].

VEGETAIS E TOMATE

Após a trituração dos vegetais e do tomate o eléctrodo de vidro foi mergulhado directamente na amostra^[252].

Efectuaram-se três medições de pH para cada amostra de cada matriz.

2.4.2.2. Determinação da humidade

SOLOS

Colocaram-se as cápsulas de porcelana na estufa a 110 °C durante 10 minutos. Arrefeceu-se dentro de um excicador e pesou-se. Repetiu-se este procedimento até massa constante (m_1).

Pesou-se para a cápsula de porcelana uma toma de solo ($\text{massa}_{\text{cápsula+solo}}=m_2$). Colocou-se na estufa a 110 °C durante 10 minutos. Arrefeceu-se dentro de um excicador e pesou-se. Repetiu-se este procedimento até massa constante (m_3). Cada valor de teor de humidade foi obtido através da média de três determinações.

O teor de humidade (H), expresso em percentagem, é determinado pela seguinte expressão^[251]:

$$\text{Teor de humidade (H)} = \frac{m_2 - m_3}{m_2 - m_1} \times 100 \quad (1)$$

VEGETAIS E TOMATE

A humidade foi determinada do mesmo modo a descrita para os solos, mas o tempo de permanência da amostra na estufa a 55-60 °C foi de 12 horas (AOAC, 2000).

Na figura seguinte pode-se visualizar uma fotografia tirada às amostras de tomate em vários estados de maturação nas cápsulas de porcelana dentro da estufa antes (fig. 33a) e após as 12 horas a 55-60 °C (fig. 33b).



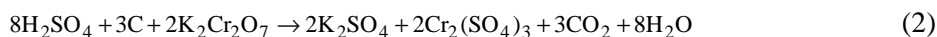
Fig. 33: Amostras de tomate fruto triturado na estufa **a)** antes e **b)** após as 12 horas a 55-60 °C para a determinação da humidade.

2.4.2.3. Determinação da matéria orgânica

SOLO

O método mais utilizado na determinação do teor natural de matéria orgânica (% TNMO) consiste num método indirecto no qual se determina inicialmente o carbono orgânico sendo posteriormente o valor obtido multiplicado pelo coeficiente de Van Bemmelen (f)^[253].

Para a determinação do teor de carbono orgânico (% f_{co}) efectuou-se uma digestão ácida na presença de dicromato de potássio promovendo assim a oxidação da matéria orgânica contida no solo. O excesso de dicromato de potássio foi posteriormente titulado com sulfato de ferro e amónio (SFA)^[253]. A equação que representa a reacção é:



O procedimento para esta determinação foi o seguinte: pesou-se num vidro de relógio entre 0,25 a 1,0 g de solo, transferiu-se a amostra para um tubo de digestão e adicionou-se 25,00 mL da solução oxidante constituída por dicromato de potássio, ácido sulfúrico e ácido orto-fosfórico. Procedeu-se à digestão à temperatura de 200 °C durante duas horas, deixou-se arrefecer, transferiu-se o conteúdo do tubo de digestão para um matraz e adicionou-se aproximadamente 100 mL de água destilada. Titulou-se esta solução com SFA 0,40 M em meio sulfúrico e usou-se difenilaminossulfonato de sódio como indicador.

Juntamente com as amostras colocou-se também no digestor um ensaio em branco. No tubo de digestão do branco colocou-se apenas 25,00 mL de solução oxidante.

O teor de carbono orgânico pode então ser calculado através da seguinte expressão:

$$\% f_{co} = \frac{(V_b - V_a) \times M \times 3 \times 10^{-3} \times 100}{m_s} \quad (3)$$

Onde:

% f_{co} - Teor em carbono orgânico (%);

V_a - Volume de SFA gasto para titular a amostra (mL);

V_b - Volume de SFA gasto para titular o ensaio em branco (mL);

M - Molaridade da solução SFA (mol/L);

m_s - Massa de solo (g).

A % TNMO é determinada pela multiplicação de f_{co} pelo coeficiente de Van Bemmelen (f = 1,724).

$$\% \text{TNMO} = \% f_{co} \times 1,724 \quad (4)$$

2.4.2.4. Determinação da densidade a granel

SOLOS

A densidade a granel (ρ) foi determinada pela relação massa/volume quando se deixa cair o solo, previamente seco a 105 °C durante 24 horas, livremente para um recipiente de volume conhecido^[251].

O procedimento adoptado foi o seguinte: pesou-se uma proveta seca de 25 mL, encheu-se até à marca com solo, deixando cair o solo livremente. Pesou-se novamente a proveta com o solo.

A densidade aparente é então calculada através da seguinte expressão:

$$\rho = \frac{m_s}{V_p} \quad (5)$$

$$m_s = \text{massa}_{\text{proveta+solo}} - \text{massa}_{\text{proveta}} = \text{massa de solo}$$

Onde:

ρ - Densidade a granel (g/mL);

m_s - Massa de solo (g)

V_p - Volume da proveta (mL).

2.4.3. Pesagem da matriz e etapa de extracção

SOLOS

Pesaram-se cerca de 5 g de solo directamente para o vaso de extracção.

VEGETAIS E TOMATE

Pesaram-se cerca 1,67 g de amostra e 3,33 g de sulfato de sódio anidro directamente para o vaso de extracção (2:1, m/m).

Após a pesagem directa para os vasos de extracção (fig. 34a) da matriz a extrair, colocou-se em cada vaso um agitador (fig. 34b), excepto no vaso de controlo (fig. 34c-d) e pipetou-se para cada vaso 20,00 mL de solvente de extracção (fig. 34e). Os solventes de extracção estudados foram: o acetonitrilo, o diclorometano-metanol (9:1, v/v), e o hexano-acetona (1:1, v/v). As temperaturas de extracção testadas foram 60, 70 e 80 °C.

Colocou-se o vaso de extracção dentro de uma manga (fig. 34f). No topo do vaso colocou-se a tampa^M (fig. 34g) e o conjunto (vaso, manga e tampa) foi colocado num suporte (fig. 34i). Os vasos foram fechados pelo movimento de um parafuso (fig. 34j) situado no topo do suporte com o auxílio de uma chave efectuando um movimento rotativo da esquerda para a direita.

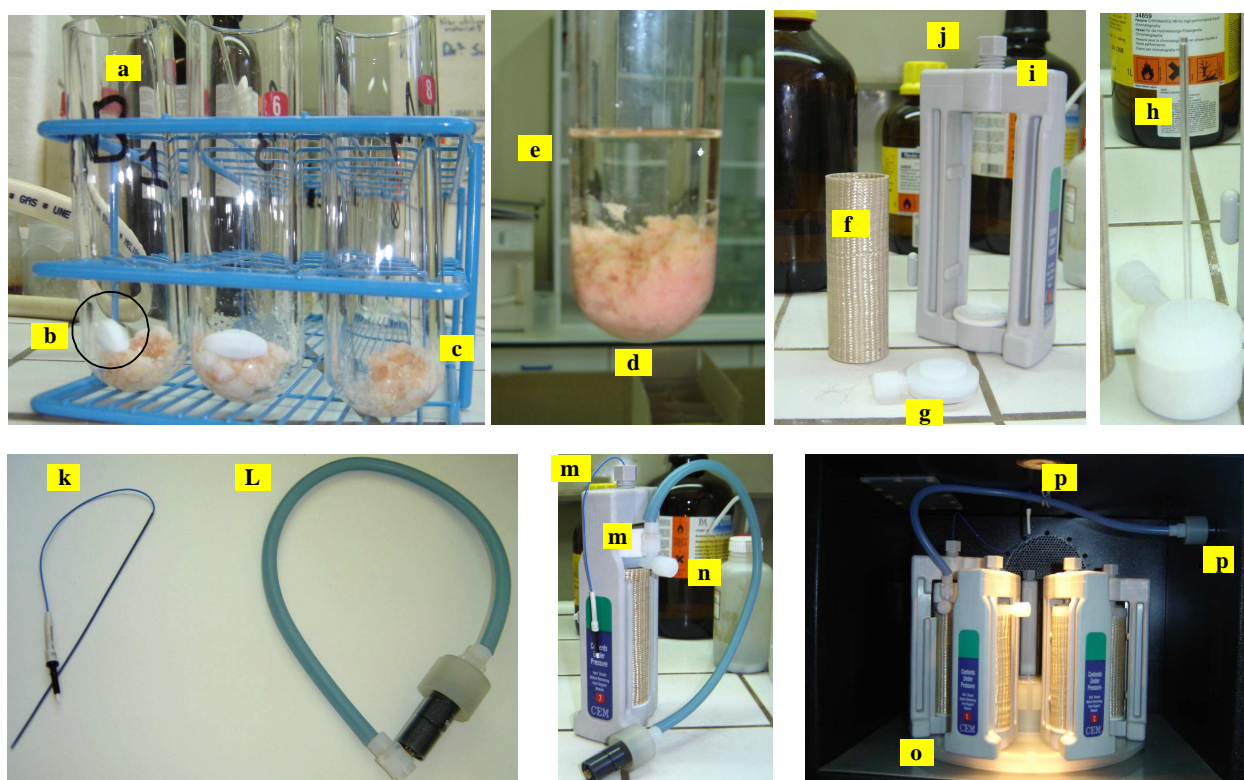
Colocaram-se as sondas de temperatura (fig. 34k) e de pressão (fig. 34l) no vaso de controlo (fig. 34m).

Verificaram-se se as válvulas de pressão se encontravam fechadas (fig. 34n).

Colocaram-se os suportes dentro do microondas no carrossel (fig. 34o).

Ligaram-se as sondas ao microondas (fig. 34p).

Ligou-se e programou-se o microondas, e efectuou-se a extracção.



Legenda: a) vaso de extracção, b) agitador, c) matriz de tomate com sulfato de sódio anidro, d) vaso de controlo (sem agitador), e) solvente de extracção, f) manga, g) tampa, h) tampa do vaso de controlo com o capilar para a sonda de temperatura, i) suporte, j) parafuso, k) sonda de temperatura, l) sonda de pressão, m) local de encaixe das sondas no vaso de controlo, n) válvula de pressão, o) carrossel e p) local de encaixe das sondas no microondas.

Fig. 34: Etapas do processo de extracção assistida por microondas (MAE).

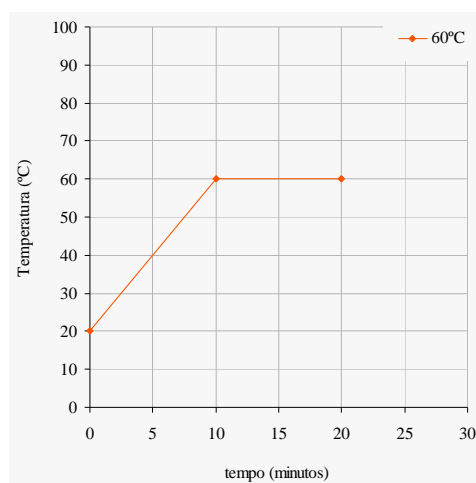
^M No vaso de controlo a tampa possui um capilar (fig. 34h), onde é colocada a sonda de temperatura.

Os parâmetros de extracção para os solos, vegetais e fruto, são apresentados na tab. 15. Dos parâmetros registados na tabela seguinte, o único parâmetro optimizado para cada matriz estudada foi a temperatura de extracção, os restantes parâmetros foram colocados tendo em conta algumas considerações referidas por Molins C. *et al*^[114] e Sun L. *et al*^[88, 107] e de acordo com as especificações do equipamento.

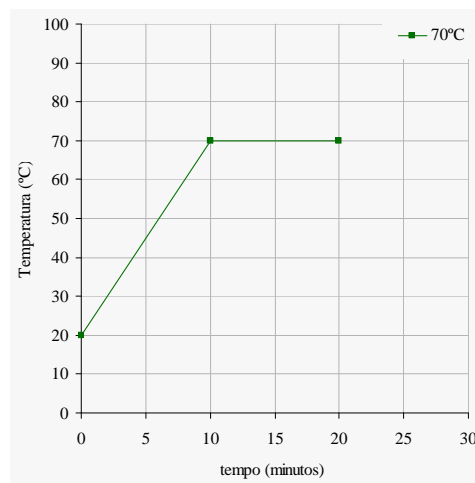
Tab. 15: Parâmetros óptimos para a extracção assistida por microondas (MAE) dos pesticidas em estudo nas matrizes de vegetais, fruto e solos.

| Matriz | Tempo de rampa (minutos) | Temperatura de extracção (°C) | Tempo de extracção (minutos) | Potência (W) | Pressão (psi) | Volume de solvente de Extracção (mL) | Velocidade de agitação |
|------------------|-----------------------------|----------------------------------|---------------------------------|-----------------|------------------|---|------------------------|
| Vegetais e fruto | 10 | 60 | 10 | 600 | 100 | 20 | 2 (média) |
| Solos | 10 | 70 | 10 | 600 | 100 | 20 | 2 (média) |

O programa da temperatura de extracção utilizado no microondas está ilustrado na fig. 35.



a



b



Legenda: 1) Etapa de aquecimento: aumento gradual da temperatura durante 10 minutos, 2) Etapa de extracção: manter a temperatura de extracção durante 10 minutos, 3) Etapa de arrefecimento: arrefecimento até 30 °C.

Fig. 35: Programa de extracção aplicado: **a)** vegetais e fruto e **b)** solos.

A cor dos extractos límpidos obtidos após extracção está descrita na tabela seguinte (tab. 16).

Tab. 16: Cor dos extractos obtidos após o processo de extracção por MAE das diferentes matrizes.

| Matriz | Cor do extracto |
|-----------------|-------------------------------|
| Batata | Amarelo claro |
| Cenoura | Laranja vivo |
| Repolho | Verde vivo |
| Cebola | Ligeira coloração amarela |
| Tomate | Verde a vermelho ^N |
| Solo do tipo I | Incolor |
| Solo do tipo II | Castanho claro |

2.4.4. Filtração dos extractos obtidos após extracção por MAE

Colocou-se no filtro um pouco de sulfato de sódio anidro e filtrou-se o extracto obtido (fig. 36a) através de um sistema de filtração (fig. 36b-c). Lavou-se as paredes do vaso de extracção e do sistema de filtração com 5 mL de solvente de extracção. Transferiu-se o extracto filtrado e as lavagens recolhidos no kitasato para um tubo de evaporação (fig. 36e). Finalmente lavou-se as paredes do kitasato com 5 mL de solvente de extracção. Recolheu-se esse volume no mesmo tubo de evaporação (fig. 36e).

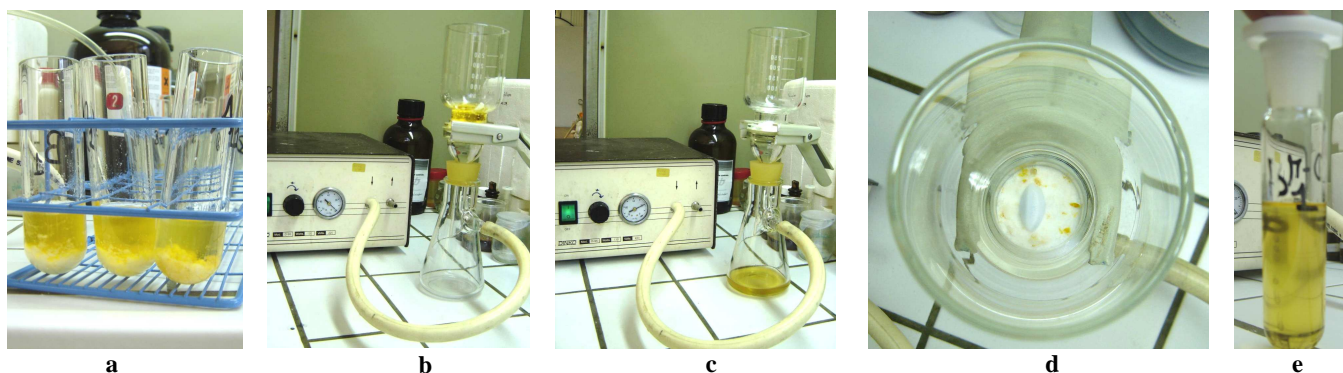


Fig. 36: Etapa de filtração do extracto após extracção no microondas: **a)** vaso com o extracto obtido após extracção no microondas, **b)** antes da filtração do extracto, **c)** após filtração do extracto, **d)** filtro após filtração do extracto e **e)** tubo de evaporação com o extracto filtrado.

^N A tonalidade do extracto obtido no processo de extracção por microondas depende do estado de amadurecimento do fruto.

2.4.5. Evaporação do solvente de extracção

Colocou-se o tubo de evaporação contendo o extracto filtrado (fig. 37a) no rotavapor (fig. 37b). Ligou-se o aquecimento do banho, programou-se a temperatura para 40 °C. Ligou-se a bomba de vácuo e regulou-se a pressão de modo a que a pressão de vácuo fosse adequada à evaporação do solvente de extracção. Evaporou-se o extracto até a secura (fig. 37c) e redissolveu-se o resíduo com 1 mL de acetonitrilo. Filtrou-se a redissolução por filtros *Macherey-Nagel* de porosidade 0,20 µm para um vial de LC.

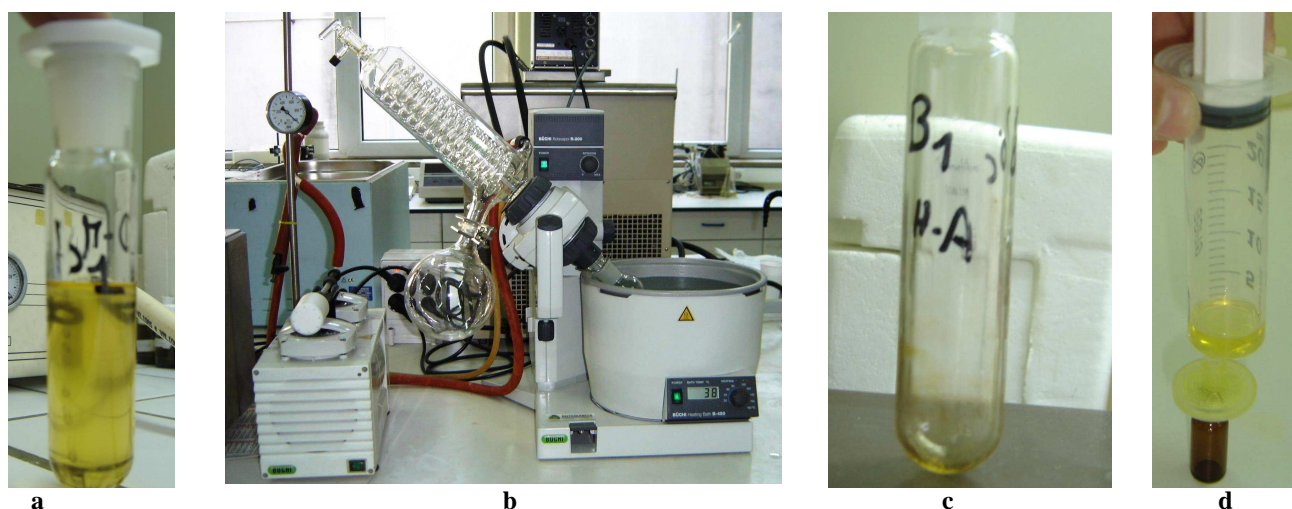


Fig. 37: Etapa da evaporação do solvente de extracção e pré-concentração dos pesticidas; **a)** tubo de evaporação com o extracto, **b)** rotavapor, **c)** tubo de evaporação com o resíduo do extracto e **d)** filtração da redissolução com acetonitrilo antes da injeção na LC.

2.4.6. Ensaio de recuperação

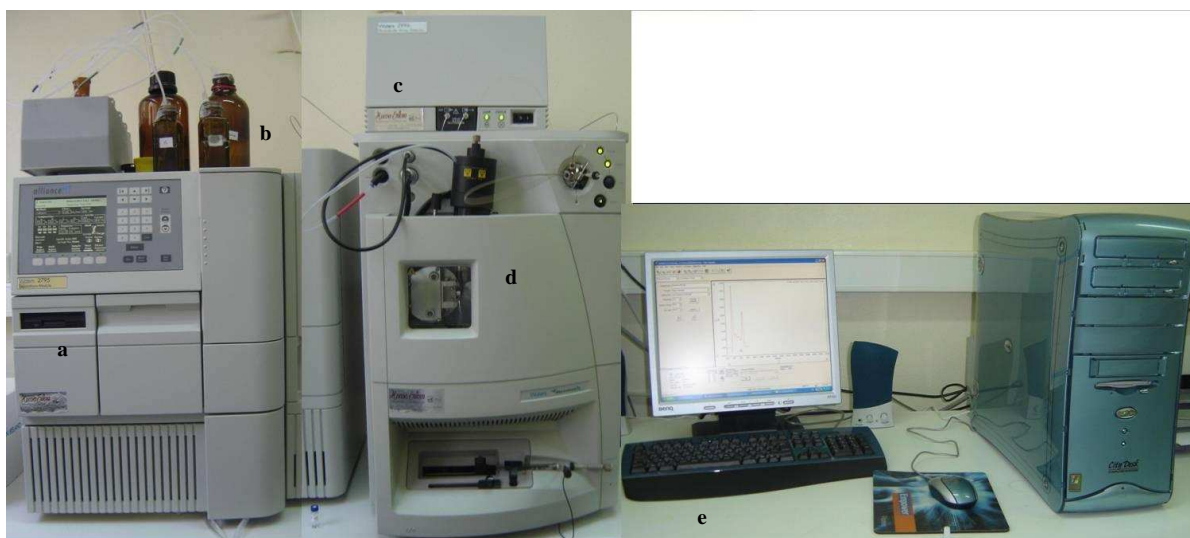
O estudo da escolha do solvente de extracção (foram testados os solventes: acetonitrilo, hexano-acetona (1:1, v/v) e diclorometano-metanol (9:1, v/v)) e da temperatura de extracção (foram testadas as temperaturas: 60, 70 e 80 °C) foi efectuada através de ensaios de recuperação a partir da contaminação das matrizes com os nove pesticidas da família dos carbamatos e das ureias.

A contaminação foi efectuada da seguinte forma:

- Contaminaram-se as matrizes que se encontram nos vasos de extracção (pesadas directamente para os vasos) com 1 mL de solução padrão misto (preparada em acetonitrilo) ($n \geq 3$). Efectuou-se a contaminação na matriz dos solos do tipo I e do tipo II, com uma solução padrão misto com concentração de 250 $\mu\text{g/L}$ em todos os pesticidas (nível de contaminação de 50,0 $\mu\text{g/kg}$). A contaminação na matriz dos vegetais e fruto (tomate) foi efectuada com o nível de contaminação I, com concentrações diferentes nos nove pesticidas entre 80 a 250 $\mu\text{g/L}$ (nível de contaminação de 48,0 a 149 $\mu\text{g/kg}$).
- Nos restantes vasos adicionou-se 1 mL de acetonitrilo às matrizes que serão usados como brancos ($n \geq 2$).
- Para os vegetais e fruto:
 - deixaram-se os vasos com as matrizes contaminadas e os brancos, em repouso ao abrigo da luz durante 1 hora antes de realizar a extracção por MAE.
- Para os solos:
 - deixaram-se os vasos com as matrizes contaminadas e os brancos, em repouso ao abrigo da luz de um dia para o outro (24 horas) antes de realizar a extracção por MAE.

2.4.7. Análise cromatográfica

Na análise dos extractos de pesticidas utilizou-se cromatografia líquida recorrendo a uma coluna de fase reversa C_{18} e à detecção por DAD (fig. 38) aos comprimentos de onda específicos para cada um dos nove pesticidas estudados.



Legenda: a) módulo de separação, b) eluentes, c) detector DAD, d) detector MS e e) registor

Fig. 38: Equipamento de cromatografia líquida utilizado e detectores DAD e MS.

Injectou-se 40 μL (*loop* de 50 μL) de cada padrão e amostras, tendo sido efectuadas três injeções de cada solução. A separação dos pesticidas foi efectuada à temperatura de 30 °C. Utilizou-se um programa de eluição isocrática e de gradiente. As condições instrumentais foram optimizadas para a separação dos nove pesticidas estabelecendo-se o programa representado na fig. 39. A composição inicial da fase móvel foi de água:acetonitrilo 55:45 (% v/v) durante 12 minutos, aumentando de seguida a percentagem de acetonitrilo até os 100 % em 9 minutos. Durante 3 minutos foi mantida a percentagem de acetonitrilo a 100 % e ao fim de 5 minutos foram retomadas as condições iniciais. O tempo total de corrida foi de 35 minutos e o fluxo da fase móvel foi de 0,8 mL/min por DAD.

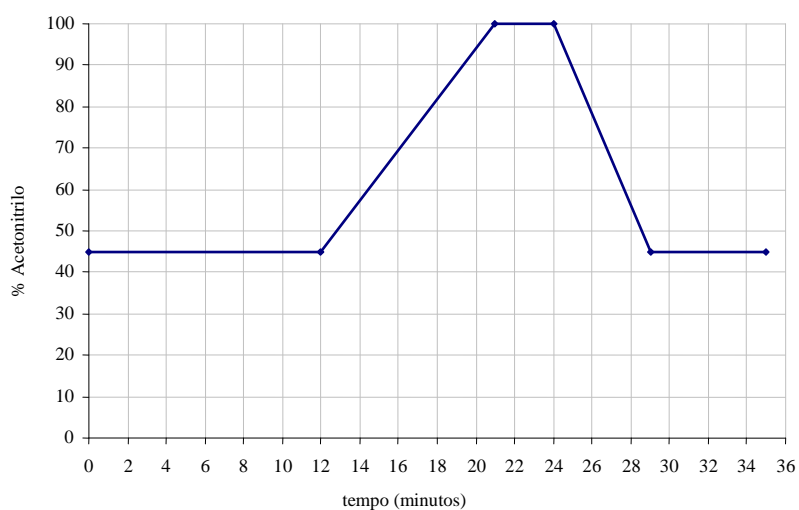


Fig. 39: Programa de eluição utilizado na separação de nove pesticidas por HPLC-DAD e MS.

Os compostos foram identificados por comparação com os tempos de retenção e com os espectros de UV das soluções padrão obtidos nas mesmas condições analíticas. Foi também efectuada a identificação dos nove pesticidas na matriz do tomate por MS, usando um fluxo de 0,19 mL/min no mesmo programa de eluição referido na fig. 39. Na tabela seguinte (tab. 17) pode-se visualizar os comprimentos de onda específicos usados para a detecção por HPLC-DAD e o ião molecular para efectuar a detecção por LC-MS para os nove pesticidas. Na tab. 18 apresentam-se os parâmetros experimentais seleccionados para a detecção por LC-MS.

Tab. 17: Comprimentos de onda, ião molecular, ião de fragmentação e cones característicos para os nove pesticidas estudados.

| Composto | DAD ^O | MS ^P | | |
|--------------|-------------------|-----------------|------------------|-----------------|
| | λ (nm) | Ião molecular | Ião fragmentação | Ref. |
| Carbofurão | 199,2 | 222 | | [152, 254-256] |
| arbaril | 221,4 | 202 | | [255-257] |
| Etiofencarbe | 192,2 | 226 | | [255] |
| Monolinurão | 246,5 | | 148 | [256] |
| Metobromurão | 248,5 | 261 | | [256] |
| Linurão | 249,7 | 249 | | [255, 256, 258] |
| Clorprofame | 240,3 | 213 | | [258] |
| EPTC | 207,4 | | 128 | [152] |
| Butilato | 208,5 | 218 | | [175] |

^O Comprimentos de onda obtidos para cada pesticida pela injeção das soluções padrão por HPLC-DAD.

^P Os valores do ião molecular para cada pesticida em estudo foram encontrados na bibliografia citada.

Tab. 18: Parâmetros experimentais seleccionados para a detecção por LC-MS.

| | |
|---------------------------------------|------|
| <i>Ionization Mode</i> | ES + |
| <i>Capillary Voltage</i> (kV) | 3,20 |
| <i>Extractor Voltage</i> | 2 |
| <i>R.F Lens</i> (V) | 0,5 |
| <i>Source temperature</i> (°C) | 120 |
| <i>Desolvatation temperature</i> (°C) | 400 |
| <i>Desolvatation Gas Flow</i> (L/hr) | 800 |
| <i>Cone Gas Flow</i> (L/hr) | 0 |
| <i>LM Resolution</i> | 13 |
| <i>HM Resolution</i> | 13 |

No anexo VI (Pág. 225 à 228) apresentam-se vários fluxogramas evidenciando todos os passos desde a preparação da amostra à análise cromatográfica.

2.4.8. Validação da metodologia analítica

A validação da metodologia analítica é um processo que fornece uma evidência documentada de que o método é confiável ao que se aplica. Consiste numa série de procedimentos que visam assegurar credibilidade das medidas obtidas^[150].

A validação de um método é uma etapa muito importante e necessária para que o método desenvolvido possa ser utilizado e envolve o estabelecimento do procedimento de extracção, das condições cromatográficas e realização de alguns estudos preliminares quanto à selectividade, sensibilidade e linearidade^[150].

Estudou-se a linearidade da resposta do detector DAD para a relação existente entre a concentração do analito e a área do pico correspondentes, para todos os pesticidas em estudo numa gama de concentração de 10,0 a 500 µg/L para os pesticidas: carbaril, carbofurão, clorprofame, EPTC, etiofencarbe, linurão, metobromurão e linurão e de 30,0 a 500 µg/L para o pesticida butilato. As concentrações utilizadas são apresentadas na tab. 19. As curvas de calibração foram construídas usando a área do pico obtida pela injeção directa da solução padrão com uma respectiva concentração em todos os pesticidas em função da concentração de solução mistura padrão.

Tab. 19: Composição das soluções padrão utilizadas na construção das curvas de calibração por HPLC-DAD.

| Composto | Concentração (µg/L) | | | | | | | | | | |
|--------------|------------------------|----------------|----------------|----------------|----------------|----------------|----------------|----------------|----------------|-----------------|-----------------|
| | P ₁ | P ₂ | P ₃ | P ₄ | P ₅ | P ₆ | P ₇ | P ₈ | P ₉ | P ₁₀ | P ₁₁ |
| Carbofurão | 10,0 | 30,0 | 50,0 | 75,0 | 100 | 200 | 250 | 300 | 350 | 400 | 500 |
| Carbaril | 10,0 | 30,0 | 50,0 | 75,0 | 100 | 200 | 250 | 300 | 350 | 400 | 500 |
| Etiofencarbe | 10,0 | 30,0 | 50,0 | 75,0 | 100 | 200 | 250 | 300 | 350 | 400 | 500 |
| Monolinurão | 10,0 | 30,0 | 50,0 | 75,0 | 100 | 200 | 250 | 300 | 350 | 400 | 500 |
| Metobromurão | 10,0 | 30,0 | 50,0 | 75,0 | 100 | 200 | 250 | 300 | 350 | 400 | 500 |
| Linurão | 10,0 | 30,0 | 50,0 | 75,0 | 100 | 200 | 250 | 300 | 350 | 400 | 500 |
| Clorprofame | 10,0 | 30,0 | 50,0 | 75,0 | 100 | 200 | 250 | 300 | 350 | 400 | 500 |
| EPTC | 10,0 | 30,0 | 50,0 | 75,0 | 100 | 200 | 250 | 300 | 350 | 400 | 500 |
| Butilato | | 30,0 | 50,0 | 75,0 | 100 | 200 | 250 | 300 | 350 | 400 | 500 |

No decorrer do trabalho experimental utilizou-se sempre a média de pelo menos três injecções para quantificar um pesticida, eliminando o valor correspondente a uma injecção quando o coeficiente de variação (CV) fosse superior a 10 %. A repetibilidade foi avaliada para um número de injecções sucessivas (n), nas mesmas condições operatórias, através do CV obtido pela seguinte expressão^[259]:

$$CV (\%) = \frac{s}{\bar{x}} \times 100 \quad (6)$$

Onde:

s - desvio padrão.

\bar{x} - valor médio das determinações.

Os valores de recuperação (Rec), expressos em percentagem, foram calculados através da seguinte expressão:

$$Rec (\%) = \frac{\left(\frac{\mu g}{Kg}\right)_a}{\left(\frac{\mu g}{Kg}\right)_b} \times 100 \quad (7)$$

Onde:

$\left(\frac{\mu g}{Kg}\right)_a$ - massa de pesticida obtida por massa de matriz pesada após extracção no MAE e detectada por HPLC-DAD.

$\left(\frac{\mu g}{Kg}\right)_b$ - massa de matriz pesticida usada para contaminar inicialmente a matriz (valor teórico) por massa de matriz pesada.

Os limites de detecção (LOD) e os limites de quantificação (LOQ) do método cromatográfico foram calculados a partir dos parâmetros estatísticos das curvas de calibração traçada para cada pesticida, a partir das seguintes expressões^[259]:

$$LOD = \frac{3 S_{Y/X}}{b} \quad (8)$$

$$LOQ = \frac{10 S_{Y/X}}{b} \quad (9)$$

Onde:

b - representa o declive da recta de regressão.

$S_{Y/X}$ - representa o desvio padrão da regressão (obtido através da expressão n.º 10)^[259].

$$S_{Y/X} = \sqrt{\frac{\sum_i (y_i - \bar{y})^2}{n_i - 2}} \quad (10)$$

Onde:

y_i - resposta do detector para um dado nível de concentração.

\bar{y} - é o valor correspondente estimado a partir da curva de calibração.

n_i - é o número de pontos utilizados na curva de calibração.

O desvio padrão do declive, S_b , foi calculado segundo a seguinte expressão^[259]:

$$S_b = \frac{S_{Y/X}}{\sqrt{\sum_i (x_i - x_{\text{médio}})^2}} \quad (11)$$

O desvio padrão da ordenada na origem, S_a , foi calculado segundo a seguinte expressão^[259]:

$$S_a = S_{Y/X} \cdot \sqrt{\frac{\sum_i x_i^2}{n \cdot \sum_i (x_i - x_{\text{médio}})^2}} \quad (12)$$

Parâmetros também importantes na validação dos resultados são os que dizem respeito ao erro do declive ($S_b/b \leq 5\%$) e ao intervalo de confiança da ordenada na origem ($a - tS_a < 0 < a + tS_a$)^[260].

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Neste capítulo pretende-se apresentar os resultados do desenvolvimento de uma metodologia para o doseamento de resíduos de pesticidas da família dos carbamatos e das ureias em produtos agrícolas e solos utilizando HPLC-DAD. Os compostos incluíram nove pesticidas, dos quais três são ureias (linurão, monolinurão e metobromurão) e seis pertencem à família dos carbamatos (carbofurão, carbaril, etiofencarbe, clorprofame, EPTC e butilato).

Os pesticidas carbamatos e ureias são pesticidas polares e termolábeis sendo por isso menos adequados à análise por GC, uma vez que se decompõem rapidamente a subprodutos durante a determinação, implicando o uso de técnicas alternativas^[88, 99 152, 154]. A LC associado a vários tipos de detectores tornou-se assim uma poderosa ferramenta na análise de compostos polares e termolábeis^[82, 152, 231]. Este estudo inicialmente debruçou-se sobre a análise de pesticidas em produtos agrícolas. No entanto foi desenvolvida uma técnica de extracção por MAE e baseada na análise por HPLC-DAD nos solos, uma vez que quando os pesticidas são aplicados na agricultura, estes também contaminam o meio ambiente envolvente. Analisou-se vinte e oito amostras de tomate e seis amostras de derivado de tomate por HPLC-DAD e LC-MS; uma amostra de cada vegetal por HPLC-DAD e dois solos de características significativamente diferentes (solo do tipo I e do tipo II) por HPLC-DAD.

Os resultados obtidos serão apresentados de acordo com a seguinte abordagem:

Numa primeira fase deste trabalho procedeu-se à caracterização em termos de pH, humidade, teor carbono orgânico, teor natural de matéria orgânica, densidade a granel e tonalidade, nas matrizes de: tomate, vegetais, solo do tipo I e solo do tipo II (subcapítulo 3.1).

Posteriormente procedeu-se ao desenvolvimento e validação das condições cromatográficas que permitiram a separação adequada dos compostos em estudo. Os resultados obtidos estão reunidos no subcapítulo 3.2.

Foi efectuado um estudo da degradação dos pesticidas ao longo do tempo pela injeção directa dos padrões no HPLC-DAD (subcapítulo 3.3).

Seguidamente optimizaram-se as condições operatórias de extracção por MAE, nas matrizes de matrizes de solo e de tomate. No subcapítulo 3.4 apresentam-se os resultados obtidos da optimização do processo de extracção por MAE, nos solos (subcapítulo 3.4.2) e no tomate (subcapítulo 3.4.4).

O método desenvolvido e validado para o tomate foi alargado para a análise em vegetais como a batata, a cebola, a cenoura e o repolho e os resultados obtidos são referenciados no subcapítulo 3.4.5.

Os resultados obtidos do desenvolvimento das condições cromatográficas por MS na detecção dos nove pesticidas em estudo estão descritos no subcapítulo 3.5.

A confirmação de interferentes na matriz do tomate por LC-MS (subcapítulo 3.6).

As amostras reais de tomate (tomate Marmande, tomate Roma VF, tomate Rama, tomate Coração de Boi, tomate Chucha e tomate *Cherry*) apresentavam diferentes estados de maturação (verde a maduro) e foram recolhidas de diversas localidades de Portugal (Maia, Porto, V.N.Gaia, Póvoa de Varzim e Coimbra) e Espanha (Almería e Andaluzia) foram analisadas por HPLC-DAD e LC-MS. Os resultados obtidos são apresentados no subcapítulo 3.7. No anexo VII (Pág. 229 à 233) apresentam-se as diversas variedades existentes de tomate^[260-263], estando a negrito as variedades analisadas neste trabalho.

3.1. Caracterização das matrizes

Nas matrizes estudadas neste trabalho foram determinadas algumas características, resumidas na tab. 20. Os valores apresentados são a média de três determinações. Todos os valores obtidos em casa ensaio encontram-se no anexo VIII (Pág. 234 à 242).

Tab. 20: Características das matrizes estudadas.

| Amostras | | Estado de Maturação ou Marca | Tonalidade | pH (n=3) | H (n=3) | % f _{co} | % TNMO (n=4) | ρ (n=3) |
|-----------------------|---|------------------------------------|-----------------|-------------|------------|-------------------|-----------------|-----------------|
| Tomate fresco | T _{Marmade} -2-3-Maia | Maduro | Vermelho vivo | 4,00 | 96,7 | c.n.e. | c.n.e. | c.n.e. |
| | T _{Roma VF-2-2-Maia} | Amadurecer | Rosa salmão | 3,80 | 93,1 | c.n.e. | c.n.e. | c.n.e. |
| | T _{Roma VF-2-3-Maia} | Maduro | Vermelho vivo | 3,97 | 94,3 | c.n.e. | c.n.e. | c.n.e. |
| | T _{Rama -5-3-Almería} | Maduro | Vermelho vivo | 3,84 | 96,3 | c.n.e. | c.n.e. | c.n.e. |
| | T _{Rama -2-1-Maia} | Verde | Verde claro | 3,62 | 93,9 | c.n.e. | c.n.e. | c.n.e. |
| | T _{Rama -2-2-Maia} | Amadurecer | Laranja claro | 3,72 | 95,6 | c.n.e. | c.n.e. | c.n.e. |
| | T _{Rama -2-3-Maia} | Maduro | Vermelho vivo | 3,84 | 95,6 | c.n.e. | c.n.e. | c.n.e. |
| | T _{Rama -5-1-Norte de Portugal} | Verde | Verde claro | 3,56 | 93,3 | c.n.e. | c.n.e. | c.n.e. |
| | T _{Rama -5-2-Norte de Portugal} | Amadurecer | Laranja claro | 3,61 | 95,7 | c.n.e. | c.n.e. | c.n.e. |
| | T _{Rama -5-3-Norte de Portugal} | Maduro | Vermelho vivo | 3,82 | 95,7 | c.n.e. | c.n.e. | c.n.e. |
| | T _{Rama -4-3-Coimbra} | Maduro | Vermelho vivo | 3,79 | 94,4 | c.n.e. | c.n.e. | c.n.e. |
| | T _{Rama -4-1-Póvoa de Varzim} | Verde | Verde claro | 3,59 | 92,5 | c.n.e. | c.n.e. | c.n.e. |
| | T _{Rama -4-2-Póvoa de Varzim} | Amadurecer | Laranja claro | 3,75 | 94,1 | c.n.e. | c.n.e. | c.n.e. |
| | T _{Rama -4-3-Póvoa de Varzim} | Maduro | Vermelho vivo | 3,82 | 94,3 | c.n.e. | c.n.e. | c.n.e. |
| | T _{Rama -6-2-Portugal} | Amadurecer | Laranja claro | 3,70 | 95,8 | c.n.e. | c.n.e. | c.n.e. |
| | T _{Rama -6-3-Portugal} | Maduro | Vermelho vivo | 3,81 | 94,6 | c.n.e. | c.n.e. | c.n.e. |
| | T _{Cherry -5-2-Andaluzia} | Amadurecer | Laranja claro | 3,58 | 94,7 | c.n.e. | c.n.e. | c.n.e. |
| | T _{Cherry -5-3-Andaluzia} | Maduro | Vermelho vivo | 3,71 | 96,3 | c.n.e. | c.n.e. | c.n.e. |
| | T _{Coração de Boi -4-1-Coimbra} | Verde | Verde claro | 3,59 | 93,8 | c.n.e. | c.n.e. | c.n.e. |
| | T _{Coração de Boi -4-2-Coimbra} | Amadurecer | Rosa salmão | 3,68 | 95,0 | c.n.e. | c.n.e. | c.n.e. |
| | T _{Coração de Boi -4-3-Coimbra} | Maduro | Vermelho vivo | 3,90 | 95,9 | c.n.e. | c.n.e. | c.n.e. |
| | T _{Coração de Boi -1-1-V.N.Gaia} | Verde | Verde claro | 3,59 | 93,3 | c.n.e. | c.n.e. | c.n.e. |
| | T _{Coração de Boi -1-2-V.N.Gaia} | Amadurecer | Rosa salmão | 3,68 | 93,4 | c.n.e. | c.n.e. | c.n.e. |
| | T _{Coração de Boi -1-3-V.N.Gaia} | Maduro | Vermelho vivo | 3,90 | 95,9 | c.n.e. | c.n.e. | c.n.e. |
| | T _{Chucha-4-1-Coimbra} | Verde | Verde claro | 3,61 | 93,5 | c.n.e. | c.n.e. | c.n.e. |
| | T _{Chucha-4-2-Coimbra} | Amadurecer | Rosa salmão | 3,68 | 93,8 | c.n.e. | c.n.e. | c.n.e. |
| | T _{Chucha-4-3-Coimbra} | Maduro | Vermelho vivo | 3,76 | 94,2 | c.n.e. | c.n.e. | c.n.e. |
| | T _{Chucha-6-3-Portugal} | Maduro | Vermelho vivo | 3,84 | 94,9 | c.n.e. | c.n.e. | c.n.e. |
| Produtos agrícolas | B-V.N.Gaia | - | Amarelo | 4,39 | 79,0 | c.n.e. | c.n.e. | c.n.e. |
| | Cb-V.N.Gaia | - | Amarelo pálido | 3,92 | 91,5 | c.n.e. | c.n.e. | c.n.e. |
| | Ce-V.N.Gaia | - | Laranja claro | 3,53 | 87,8 | c.n.e. | c.n.e. | c.n.e. |
| | R-V.N.Gaia | - | Verde claro | 5,30 | 80,2 | c.n.e. | c.n.e. | c.n.e. |
| Tomate transformado | Tomate pelado-Portugal | Compal | Vermelho vivo | 3,80 | 93,9 | c.n.e. | c.n.e. | c.n.e. |
| | Polpa de tomate-Portugal | Compal | Vermelho vivo | 4,05 | 88,5 | c.n.e. | c.n.e. | c.n.e. |
| | Ketchup-Portugal | Calvé | Vermelho vivo | 3,40 | 67,1 | c.n.e. | c.n.e. | c.n.e. |
| | Molho de atum em tomate (Espanha) | Pescamar | Vermelho vivo | 5,32 | 75,8 | c.n.e. | c.n.e. | c.n.e. |
| | Molho de sardinhas em tomate (Espanha) | Albo | Vermelho vivo | 5,30 | 32,8 | c.n.e. | c.n.e. | c.n.e. |
| | Molho de sardinhas em tomate (Portugal) | Ramirez | Vermelho vivo | 5,51 | 83,0 | c.n.e. | c.n.e. | c.n.e. |
| Solos | Solo do tipo I (Norte de Portugal) | - | Amarelo claro | 8,70 | 0,0300 | 0,470 | 0,81 | 1,67 g/mL |
| | Solo do tipo II (Norte de Portugal) | - | Castanho escuro | 7,32 | 15,2 | 2,14 | 3,69 | 0,88 g/mL |

c.n.e.-caracterização não efectuada

TONALIDADE

O tomate maduro apresenta a tonalidade após trituração nas variedades estudadas de vermelho vivo; para o tomate a amadurecer a tonalidade varia de acordo com a variedade: tonalidade rosa salmão para o tomate Roma VF, Coração de Boi e para o tomate Chucha, e a tonalidade laranja claro para o tomate Rama e o tomate *Cherry*. No caso do tomate com maturação verde a tonalidade nas diferentes variedades é verde claro. À medida que o fruto está mais maduro, mais acentuada é a tonalidade avermelhada e desta forma maior a quantidade presente de licopeno (licopeno é o agente natural no tomate que combate o cancro^[7]). O licopeno é o carotenóide acíclico com maior número de ligações conjugadas (11), é vermelho e absorve comprimentos de onda 446 e 505 nm (valores teóricos)^[264].

pH

Em termos de pH as amostras de tomate nas diferentes variedades têm valores compreendidos entre 3 <pH< 4 (pH ácido).

Nas matrizes vegetais os valores de pH situam-se entre 3 <pH< 6 (pH moderadamente ácido a ligeiramente ácido).

Relativamente aos derivados de tomate (tomate pelado, polpa de tomate, ketchup, molhos de atum e sardinhas em tomate) os valores de pH variaram entre 3 <pH< 6 (pH moderadamente ácido a ligeiramente ácido).

O solo do tipo I apresenta um pH ligeiramente alcalino e o solo do tipo II um pH moderadamente alcalino. O pH dos solos está acima do valor 6,5 sendo propício para o crescimento da vegetação.

HUMIDADE

Nas amostras de tomate nos três diferentes estados de maturação: tomate verde, tomate a amadurecer e tomate maduro, a humidade varia entre 92,5 %-93,9 %, 93,1 %-95,8 % e 94,3 %-96,7 %, aumentando ligeiramente com o amadurecimento do tomate.

Nos vegetais a percentagem de humidade varia entre 79,0 % para a batata e 91,5 % para a cebola.

No concentrado de tomate a humidade varia entre 32,75 % para as sardinhas em tomate de Espanha e 93,91 % no tomate pelado.

No caso dos solos verifica-se que o teor de humidade no solo do tipo I é praticamente nulo, e no solo do tipo II tem uma percentagem de 15,21 %.

TEOR NATURAL DE MATÉRIA ORGÂNICA

Obteve-se um valor baixo de % TNMO no solo do tipo I (0,81 %), e um valor elevado no solo do tipo II (3,69 %) ^Q. Para o cultivo destes solos analisados seria necessário o uso de fertilizantes para aumentar o teor de matéria orgânica. Na medida que se considera solos orgânicos quando apresentam teores superiores a 15 % de matéria orgânica ^[53, 55].

É natural que o solo do tipo I (areia) tenha um valor baixo de matéria orgânica uma vez que para valores de TNMO inferiores a 1,7 % consideram-se que os solos se encontram numa fase de pré-desertificação ^[54].

DENSIDADE A GRANEL

No solo do tipo II a densidade obtida foi de 0,88 g/mL e no solo do tipo I obteve-se um valor superior, nomeadamente 1,67 g/mL.

3.2. Desenvolvimento e validação da metodologia analítica para a determinação de pesticidas da família dos carbamatos e ureias por HPLC-DAD

Apresenta-se neste subcapítulo o desenvolvimento, a optimização e a validação de uma metodologia para a análise de nove pesticidas da família dos carbamatos (butilato, carbaril, carbofurão, clorprofame, EPTC e etiofencarbe) e ureias (linurão, monolinurão e metobromurão), utilizando HPLC-DAD. Para a determinação da ordem de eluição (tempos de retenção (t_r)) dos compostos e optimização da separação cromatográfica, realizaram-se injeções directas de padrões individuais e de mistura padrão.

Na fig. 40 apresenta-se um cromatograma de uma solução padrão dos compostos em estudo, com a concentração de 500 µg/L, obtido por injeção directa de 40 µL de solução padrão misto a 210,0 nm. Os resultados obtidos permitiram observar a seguinte ordem de eluição: carbofurão, carbaril, etiofencarbe, monolinurão, metobromurão, linurão, clorprofame, EPTC e butilato. Os tempos de retenção e absorção máxima obtida para cada pesticida encontram-se na legenda da fig. 40 e

^Q Valores de % TNMO comparados com os valores da tab. 1 do capítulo da introdução, retirados do REA de 1999 ^[11].

na tab. 21. O cromatograma apresentado na fig. 40 foi traçado a 210,0 nm apenas para ilustrar a ordem de eluição de cada pesticida.

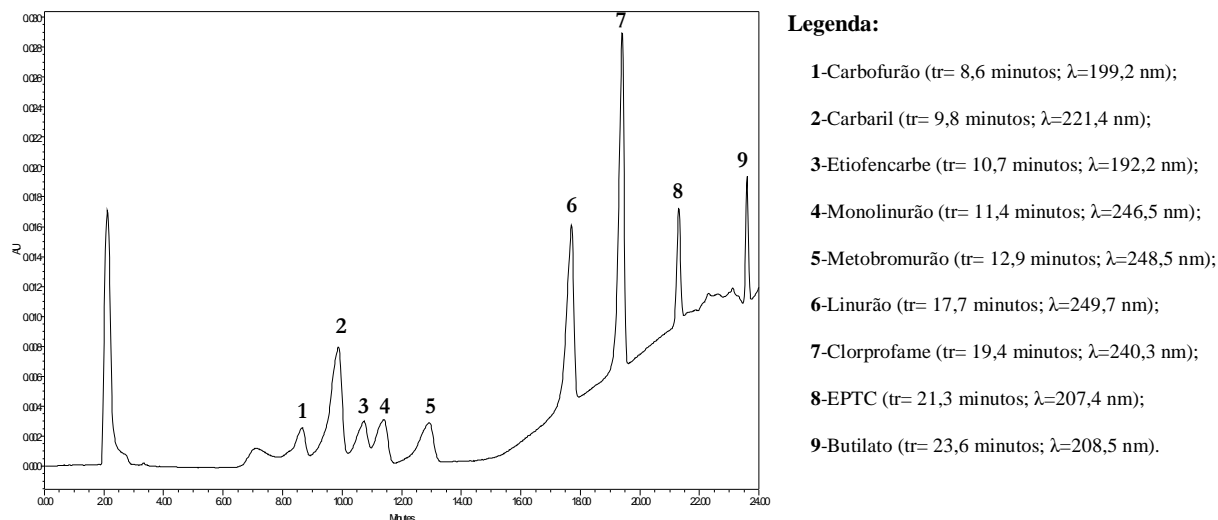


Fig. 40: Cromatograma obtido por HPLC-DAD para uma solução padrão misto contendo os compostos em estudo com uma concentração de 500 $\mu\text{g/L}$ a 210,0 nm.

Todos os picos referentes aos compostos em estudo estão bem resolvidos e a determinação cromatográfica para a detecção dos pesticidas completa-se em aproximadamente 24 minutos. A partir dos 21 minutos a eluição processa-se a 100 % de acetonitrilo, e o programa de eluição aos 29 minutos volta às condições iniciais de eluição água:acetonitrilo 55:45 (% v/v). O tempo de corrida de uma análise cromatográfica foi de 35 minutos.

Após os ensaios de optimização da separação cromatográfica, procedeu-se ao estudo da linearidade de resposta do detector. Foram injectadas, em triplicado, misturas padrão a 11 níveis de concentração. A gama de concentrações utilizada foi: 10,0; 30,0; 50,0; 75,0; 100; 200; 250; 300; 350; 400 e 500 $\mu\text{g/L}$ para os pesticidas carbofurão, carbaril, etiofencarbe, monolinurão, metobromurão, linurão, clorprofame, EPTC e de 30,0; 50,0; 75,0; 100; 200; 250; 300; 350; 400 e 500 $\mu\text{g/L}$ para o pesticida butilato. Correlacionou-se a área do pesticida obtida nos cromatogramas *versus* a concentração desse pesticida, obtendo-se as curvas de calibração cujas equações da recta e valores de coeficientes de correlação estão registados na tab. 21. A tab. 21 apresenta também os parâmetros referentes ao tempo de retenção, ao LOD e ao LOQ para cada pesticida. No anexo IX (Pág. 243 à 248), encontra-se os valores de: tempo de retenção, tempo de retenção médio, áreas, áreas médias, desvio padrão e % CV para todas as injecções efectuadas nos onze níveis de concentrações.

Foi efectuada uma curva de calibração com uma larga gama de concentrações uma vez que o nosso estudo abarcou não só a análise de pesticidas em produtos agrícolas mas também a análise de pesticidas em solos.

As curvas de calibração de cada composto e a sobreposição dos cromatogramas respectivos são ilustrados na fig. 41 à fig. 45 na concentração de 10,0 a 500 µg/L para os pesticidas: carbofurão, carbaril, etiofencarbe, monolinurão, metobromurão, linurão, clorprofame e EPTC e de 30,0 a 500 µg/L. Os respectivos cromatogramas diferem porque são visualizados em comprimentos de onda diferentes, específicos para cada pesticida em estudo.

Tab. 21: Tempos de retenção (tr), comprimentos de onda (λ), curvas de calibração, coeficiente de regressão, gama de linearidade, LOD e LOQ para os nove pesticidas estudados, por HPLC-DAD.

| Composto | tr $\bar{X} \pm \sigma_{n-1}$ (CV%) (minutos) | λ (nm) | Curva de calibração | r ² | Linearidade (µg/L) | LOD (µg/L) | LOQ (µg/L) |
|--------------|---|-----------|-----------------------|----------------|-----------------------|---------------|---------------|
| Carbofurão | 8,60 ± 0,043 (0,51) | 199,2 | y = 525,41 x + 428,06 | 0,9915 | 10,0-500 | 49,1 | 163,5 |
| Carbaril | 9,83 ± 0,027 (0,28) | 221,4 | y = 922,29 x - 3343,0 | 0,9994 | 10,0-500 | 17,5 | 58,43 |
| Etiofencarbe | 10,69 ± 0,053 (0,49) | 192,2 | y = 405,16 x - 2386,8 | 0,9940 | 10,0-500 | 44,7 | 149,1 |
| Monolinurão | 11,36 ± 0,035 (0,31) | 246,5 | y = 280,06 x - 242,82 | 0,9966 | 10,0-500 | 31,1 | 103,6 |
| Metobromurão | 12,87 ± 0,041 (0,32) | 248,5 | y = 229,62x + 406,05 | 0,9993 | 10,0-500 | 15,1 | 50,43 |
| Linurão | 17,68 ± 0,025 (0,14) | 249,7 | y = 290,89x - 1158,8 | 0,9996 | 10,0-500 | 17,4 | 57,94 |
| Clorprofame | 19,38 ± 0,020 (0,10) | 240,3 | y = 235,18x + 270,21 | 0,9990 | 10,0-500 | 17,6 | 58,63 |
| EPTC | 21,29 ± 0,022 (0,11) | 207,4 | y = 130,33x - 856,44 | 0,9994 | 10,0-500 | 26,0 | 86,71 |
| Butilato | 23,48 ± 0,49 (2,1) | 208,5 | y = 103,75x - 1827,9 | 0,9952 | 30,0-500 | 60,0 | 200,0 |

y-área do pico do pesticida

x-Concentração em µg/L

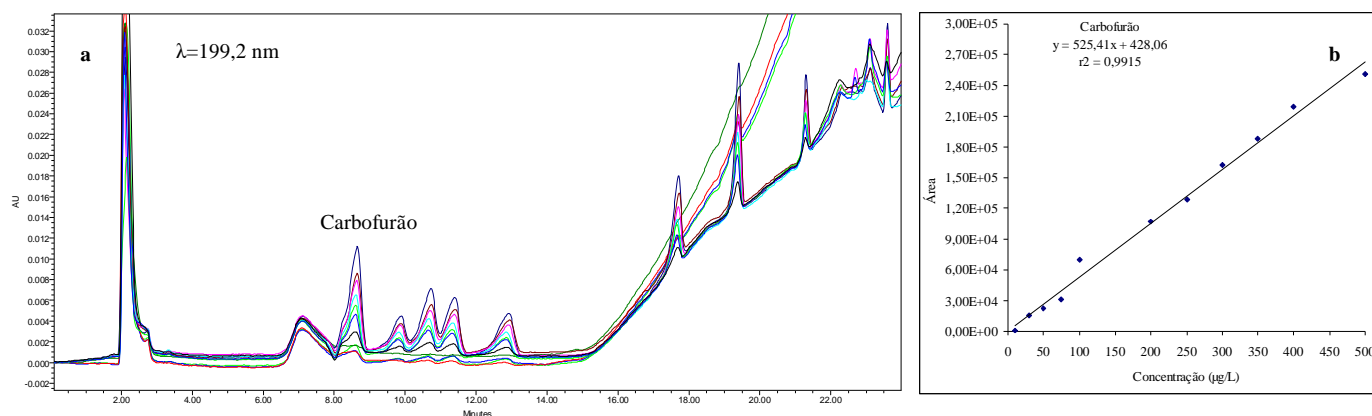


Fig. 41: a) Sobreposição dos cromatogramas correspondentes à curva de calibração do carbofurão a 199,2 nm; b) curva de calibração do carbofurão na gama de concentrações de 10,0 a 500 $\mu\text{g/L}$.

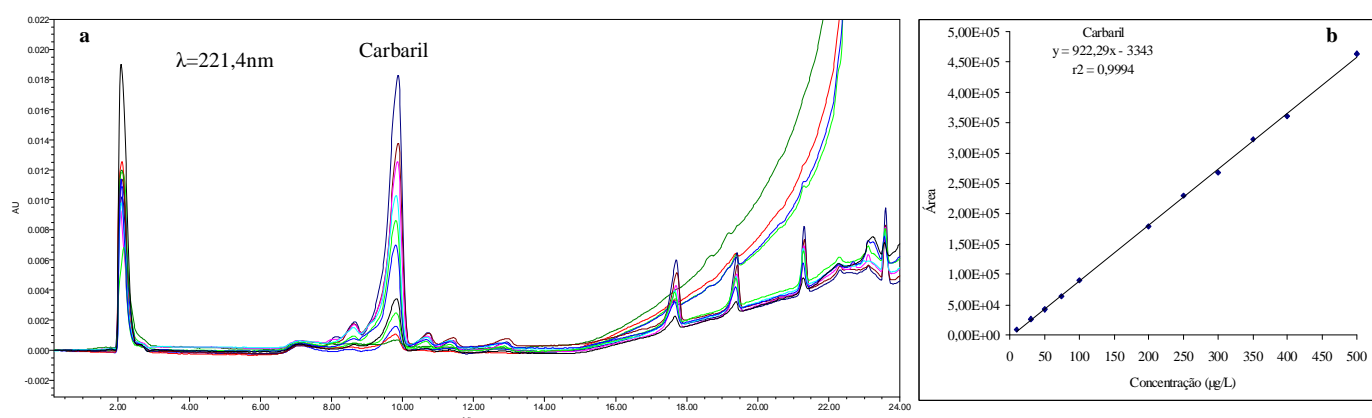


Fig. 42: a) Sobreposição dos cromatogramas correspondentes à curva de calibração do carbaril a 221,4 nm; b) curva de calibração do carbaril na gama de concentrações de 10,0 a 500 $\mu\text{g/L}$.

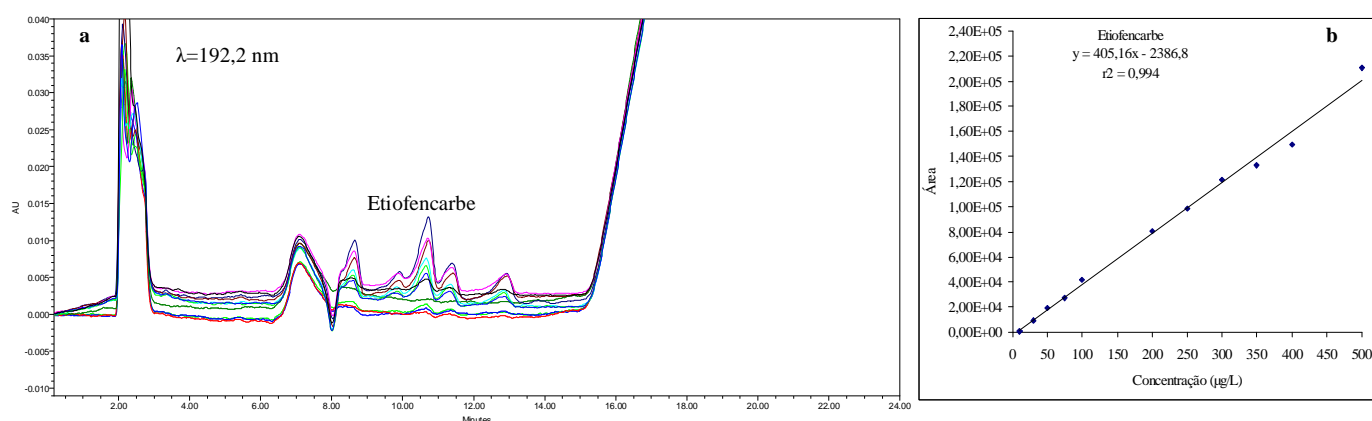


Fig. 43: a) Sobreposição dos cromatogramas correspondentes à curva de calibração do etiofencarbe a 192,2 nm; b) curva de calibração do etiofencarbe na gama de concentrações de 10,0 a 500 $\mu\text{g/L}$.

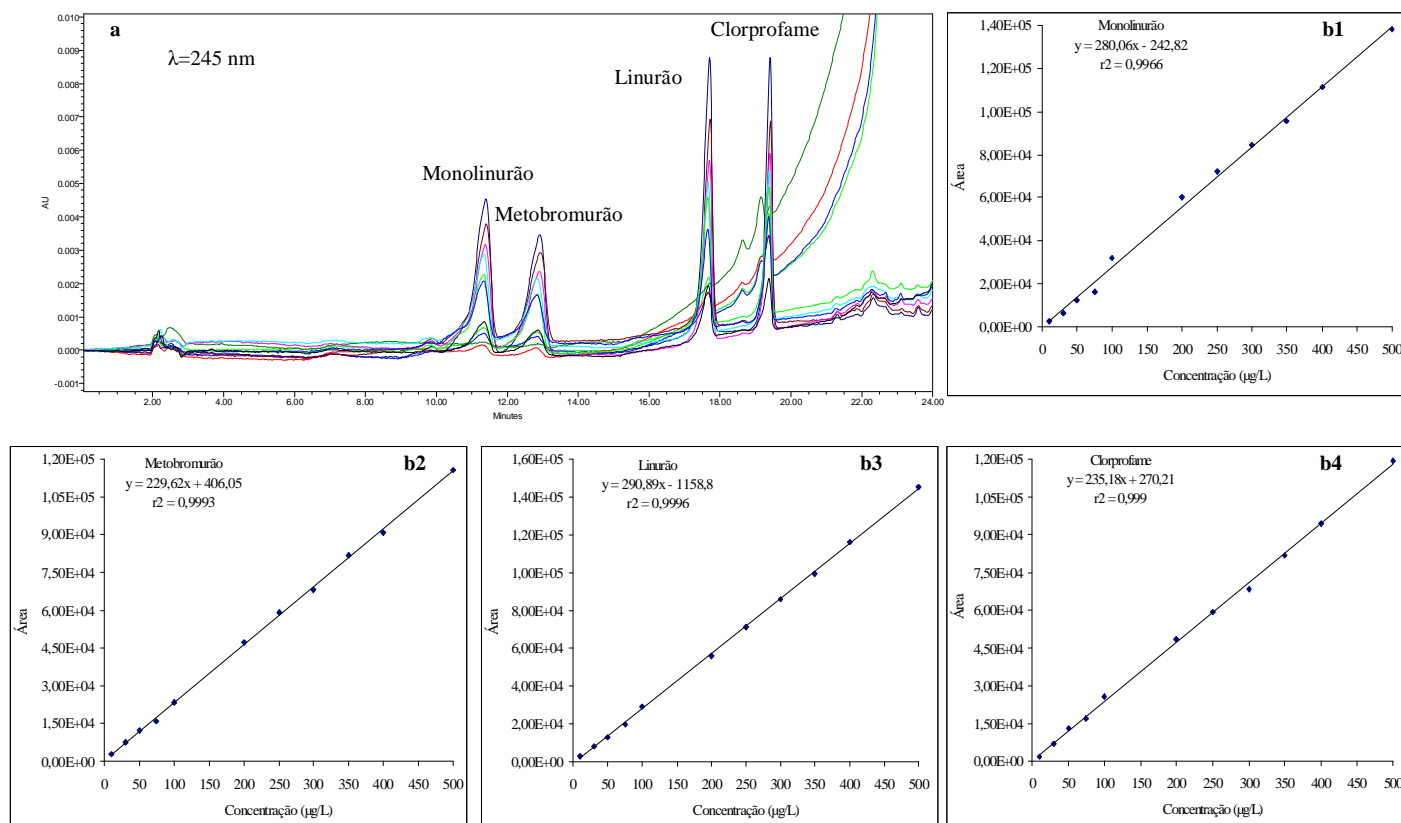


Fig. 44: a) Sobreposição dos cromatogramas correspondentes à curva de calibração monolinurão, metobromurão, linurão e clorprofame a 245 nm; b) curva de calibração: 1-monolinurão; 2-metobromurão; 3- linurão; 4- clorprofame; na gama de concentrações de 10,0 a 500 $\mu\text{g/L}$.

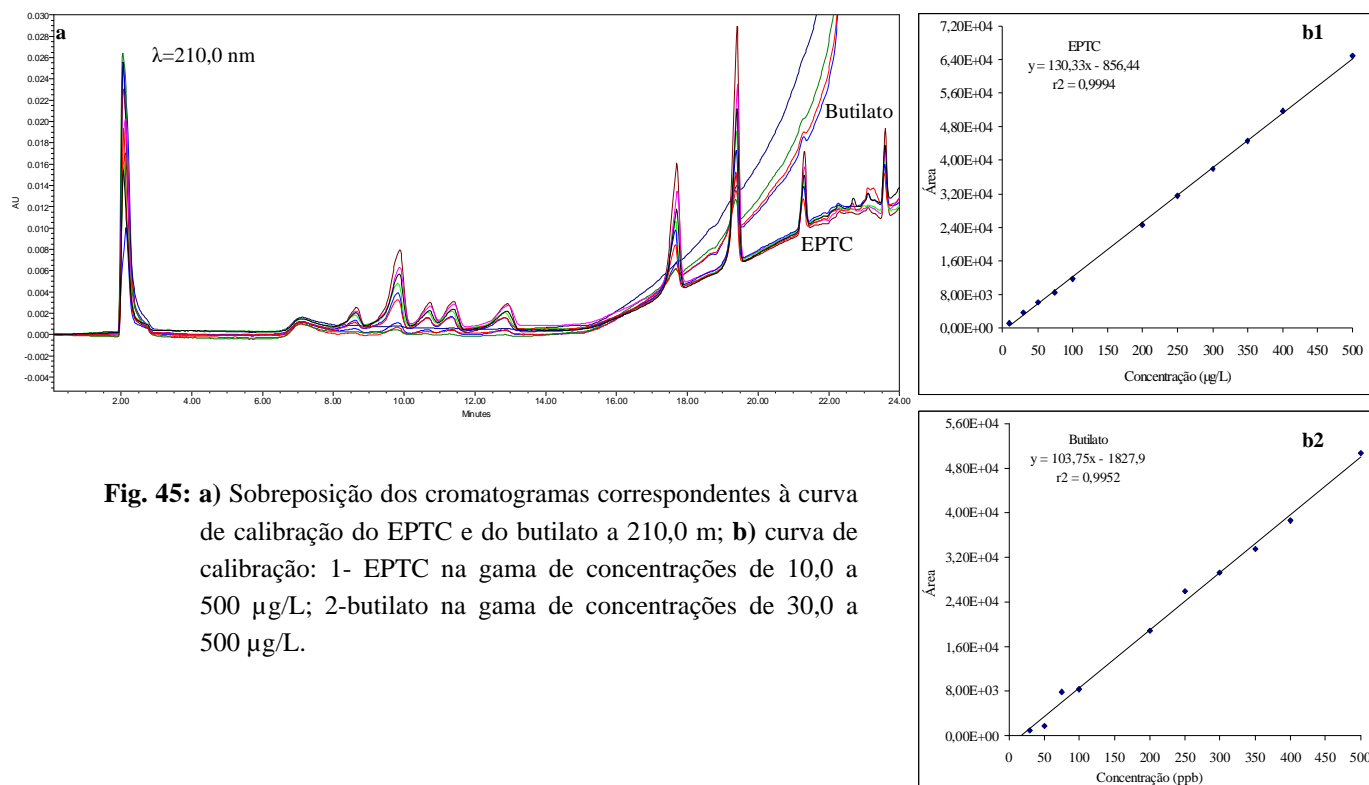


Fig. 45: a) Sobreposição dos cromatogramas correspondentes à curva de calibração do EPTC e do butilato a 210,0 m; b) curva de calibração: 1- EPTC na gama de concentrações de 10,0 a 500 $\mu\text{g/L}$; 2-butilato na gama de concentrações de 30,0 a 500 $\mu\text{g/L}$.

Considerando a injeção directa, a resposta do detector foi linear na gama estudada, respectivamente, entre aproximadamente 10,0 a 500 µg/L para os pesticidas carbofurão, carbaril, etiofencarbe, monolinurão, metobromurão, linurão, clorprofame e EPTC e 30,0 a 500 µg/L para o pesticida butilato, com um volume de injeção de 40,0 µL. As rectas de calibração possuem elevadas correlações, com os valores de r^2 a variarem entre 0,9915 para o carbofurão e 0,9996 para o linurão. Os limites de detecção foram obtidos a partir das rectas de calibração^[259].

Na tab. 22 apresentam-se os resultados obtidos para a validação estatística das curvas de calibração, encontram-se no anexo AX (Pág. 249 à 253) os cálculos efectuados na obtenção dos valores expressos na tabela seguinte.

Os resultados obtidos são bastante satisfatórios uma vez que as condições de linearidade são satisfeitas. Verifica-se que para todos os compostos, o erro do declive (S_b/b) é inferior a 5 %, o intervalo de confiança da ordenada na origem inclui a própria origem.

Tab. 22: Condições de linearidade para análise cromatográfica dos padrões por injeção directa.

| Composto | Parâmetros | | | | | | | |
|--------------|------------|-------|-----------------|---------------------|------------|----|------------|----|
| | S_a | S_b | $\frac{S_b}{b}$ | $\frac{S_b}{b}$ (%) | $a - tS_a$ | | $a + tS_a$ | |
| Carbofurão | 4240,52 | 16,30 | 0,0310 | 3,10 | -7187,92 | * | 8044,04 | * |
| Carbaril | 2659,57 | 10,23 | 0,0111 | 1,11 | -8119,59 | * | 1433,59 | * |
| Etiofencarbe | 2980,51 | 11,46 | 0,0283 | 2,83 | -7739,80 | * | 2966,20 | * |
| Monolinurão | 1431,34 | 5,50 | 0,0197 | 1,97 | -2813,51 | * | 2327,87 | * |
| Metobromurão | 571,49 | 2,20 | 0,0096 | 0,96 | -620,34 | * | 1432,44 | * |
| Linurão | 831,72 | 3,20 | 0,0110 | 1,10 | -2652,58 | * | 334,98 | * |
| Clorprofame | 680,55 | 2,62 | 0,0111 | 1,11 | -952,06 | * | 1492,48 | * |
| EPTC | 557,75 | 2,14 | 0,0165 | 1,65 | -1858,17 | * | 145,29 | * |
| Butilato | 1092,77 | 4,20 | 0,0412 | 4,12 | -3209,00 | ** | 751,19 | ** |

t distribuição t-student para um nível de confiança de 95%

*t_{student} para 11 ponto = 1,796

**t_{student} para 10 pontos (butilato) = 1,812

Deste modo considera-se este método adequado para a análise cromatográfica de nove pesticidas em estudo: butilato, carbaril, carbofurão, clorprofame, EPTC, etiofencarbe, linurão, monolinurão e metobromurão.

3.3. Estudo da estabilidade da solução padrão misto dos pesticidas

Estudou-se a degradação dos pesticidas ao longo do tempo, através da injeção directa de solução padrão misto de concentração 300 µg/L em todos os pesticidas. As injeções foram efectuadas nos dias: 0 (no dia de preparação dos pesticidas), 2, 4, 5, 6, 7, 10, 12, 15, 20, 30 e 365 dias. Na análise de um ano a mistura padrão misto não continha os pesticidas monolinurão e metobromurão, uma vez que há um ano atrás estes dois pesticidas não tinham sido seleccionados.

Na fig. 41 apresenta-se ao longo do tempo a degradação dos pesticidas em estudo. Na tab. 23 apresentam-se também os valores das áreas médias obtidas em cada dia de análise para os pesticidas e valores das áreas obtidas para o produtos de degradação (PD) formados ao longo do tempo.

Verifica-se que a partir do sétimo dia as áreas de todos os pesticidas baixaram. Os produtos de degradação PD₁ (tr=12,92 minutos, λ=199,2 nm), PD₂ (tr=17,68 minutos, λ=206,2 nm) e PD₃ (tr=18,33 minutos, λ=199,2 nm), aparecem a partir do sétimo dia, e as áreas vão aumentando ao longo do tempo. Realizou-se injeções até ao dia 30 e depois apenas se efectuou a injeção de 1 ano. O PD₄ (tr=10,97 minutos, λ=191 nm), apareceu apenas na injeção correspondente a um ano, por isso não é possível concluir qual o tempo necessário para a formação deste PD. Da fig. 47 à fig. 51 apresentam-se os cromatogramas em cada comprimento de onda característicos para cada pesticida ao longo do tempo.

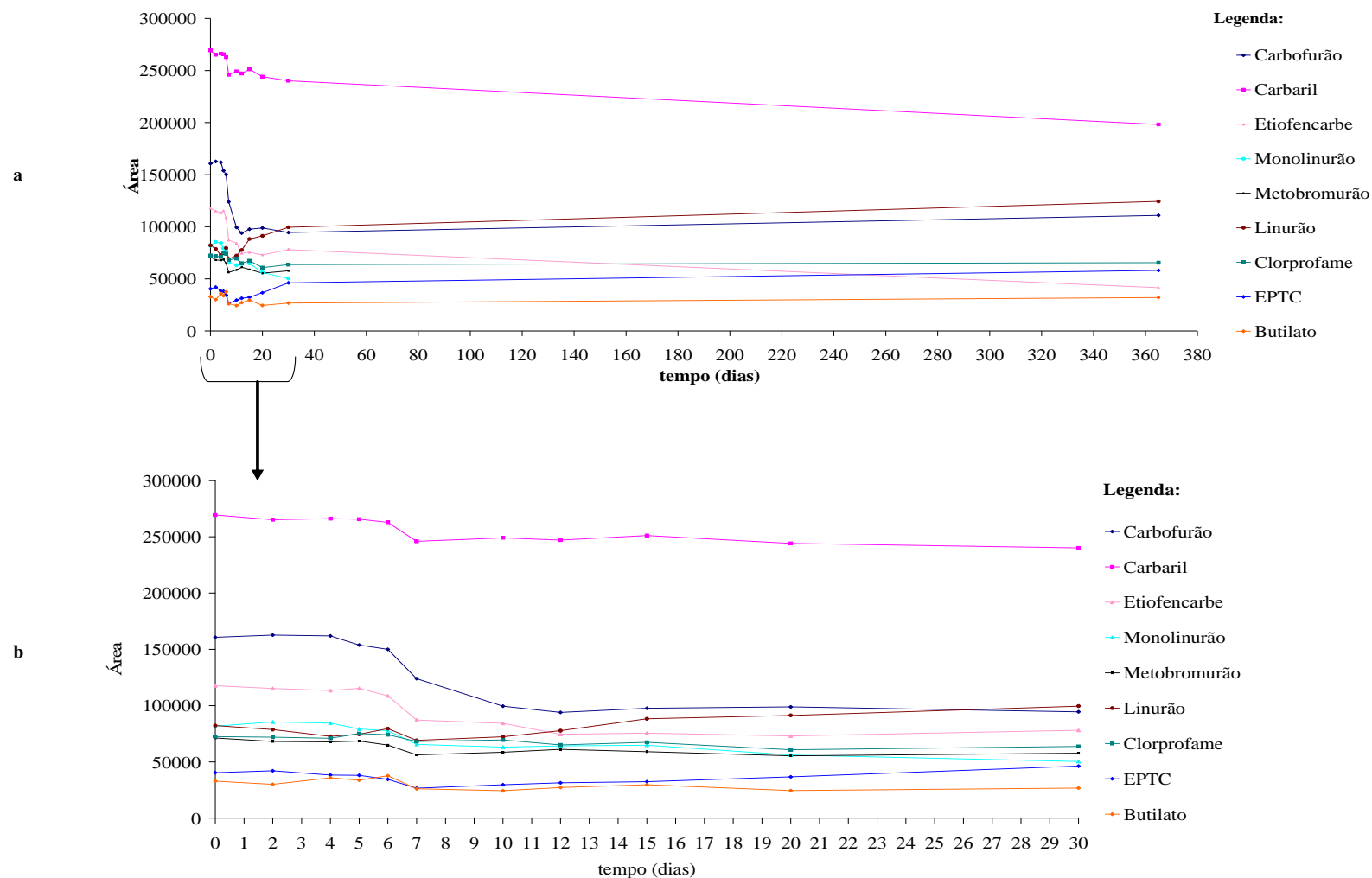


Fig. 46: Estudo da degradação dos pesticidas ao longo de um ano **a)** gráfico traçado de 0 a 365 dias e **b)** gráfico traçado de 0 a 30 dias.

Tab. 23: Áreas obtidas nos vários dias para os pesticidas: carbofurão, carbaril, etiofencarbe, monolinurão, metobromurão, linurão, clorprofame, EPTC e butilato; e as áreas obtidas nos produtos de degradação (PD) formados.

| Data | Pesticidas | | | | | | | | | Produtos de Degradação | | | |
|------|------------------|----------|--------------|-------------|--------------|---------|-------------|-------|----------|------------------------|-----------------|-----------------|-----------------|
| | Carbofurão | Carbaril | Etiofencarbe | Monolinurão | Metobromurão | Linurão | Clorprofame | EPTC | Butilato | PD ₁ | PD ₂ | PD ₃ | PD ₄ |
| | Área média (n=3) | | | | | | | | | Área média (n=3) | | | |
| 0 | 160664 | 269315 | 117619 | 81827 | 71176 | 82235 | 72415 | 40403 | 32904 | | | | |
| 2 | 162689 | 265143 | 115148 | 85507 | 68082 | 78653 | 71917 | 42002 | 30025 | | | | |
| 4 | 161911 | 266199 | 113385 | 84427 | 67802 | 72685 | 70925 | 38228 | 35803 | | | | |
| 5 | 153833 | 265667 | 115362 | 79249 | 68526 | 74506 | 75100 | 38059 | 33733 | | | | |
| 6 | 150038 | 262904 | 108715 | 77681 | 64910 | 79582 | 74165 | 34418 | 37580 | | | | |
| 7 | 123946 | 245942 | 87120 | 65529 | 56213 | 69111 | 68103 | 26560 | 26036 | 110246 | 662306 | 43067 | |
| 10 | 99427 | 249122 | 84190 | 63121 | 58509 | 72258 | 69504 | 29628 | 24316 | 107036 | 712560 | 55309 | |
| 12 | 93959 | 247122 | 74507 | 64226 | 61153 | 77644 | 64976 | 31377 | 27134 | 184800 | 652014 | 100623 | |
| 15 | 97600 | 251122 | 75468 | 64788 | 59010 | 88301 | 67397 | 32343 | 29603 | 240949 | 621455 | 136440 | |
| 20 | 98806 | 244122 | 73005 | 56070 | 55373 | 91292 | 60724 | 36677 | 24497 | 331066 | 725689 | 120098 | |
| 30 | 94484 | 240122 | 78060 | 50331 | 57677 | 99524 | 63660 | 46172 | 26732 | 624785 | 750293 | 323887 | |
| 365 | 110893 | 198198 | 41545 | | | 124341 | 65490 | 58125 | 32101 | 2766242 | 1644400 | 2729819 | 360850 |

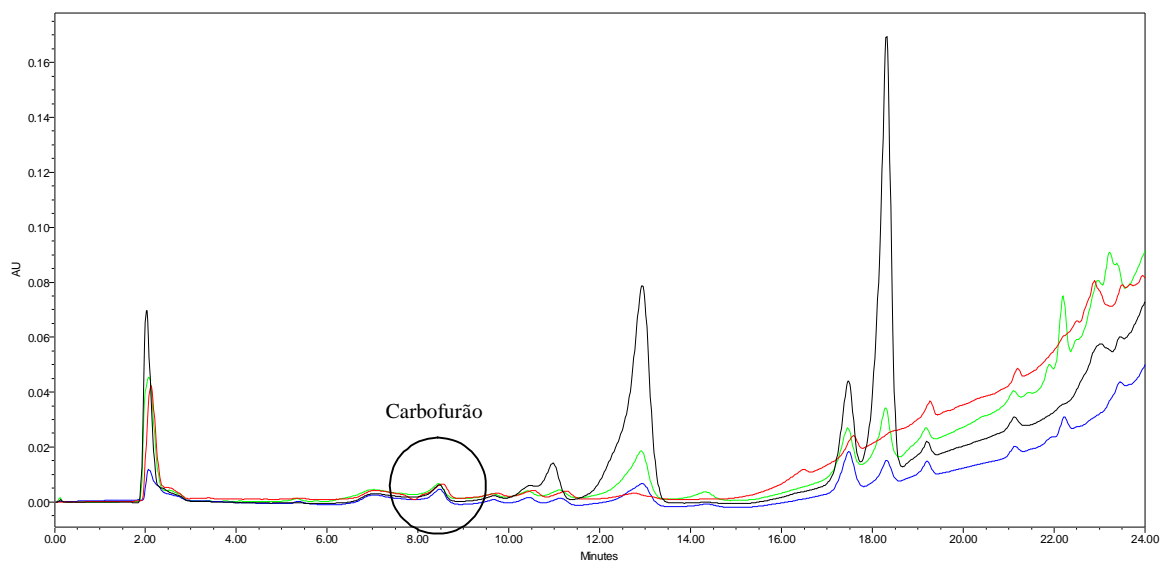


Fig. 47: Sobreposição dos cromatogramas obtido por HPLC-DAD para o pesticida carbofurão ($\lambda=199,2$ nm) em: ■ 0 dias, ■ 7 dias, ■ 30 dias e ■ 1 ano.

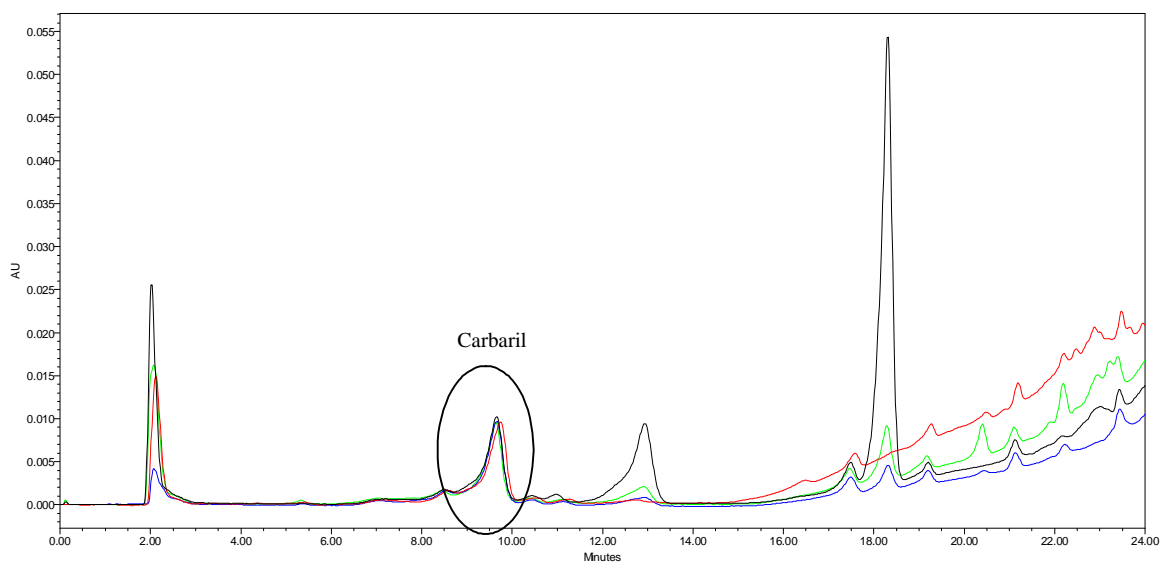


Fig. 48: Sobreposição dos cromatogramas obtido por HPLC-DAD para o pesticida carbaril ($\lambda=221,4$ nm) em: ■ 0 dias, ■ 7 dias, ■ 30 dias e ■ 1 ano.

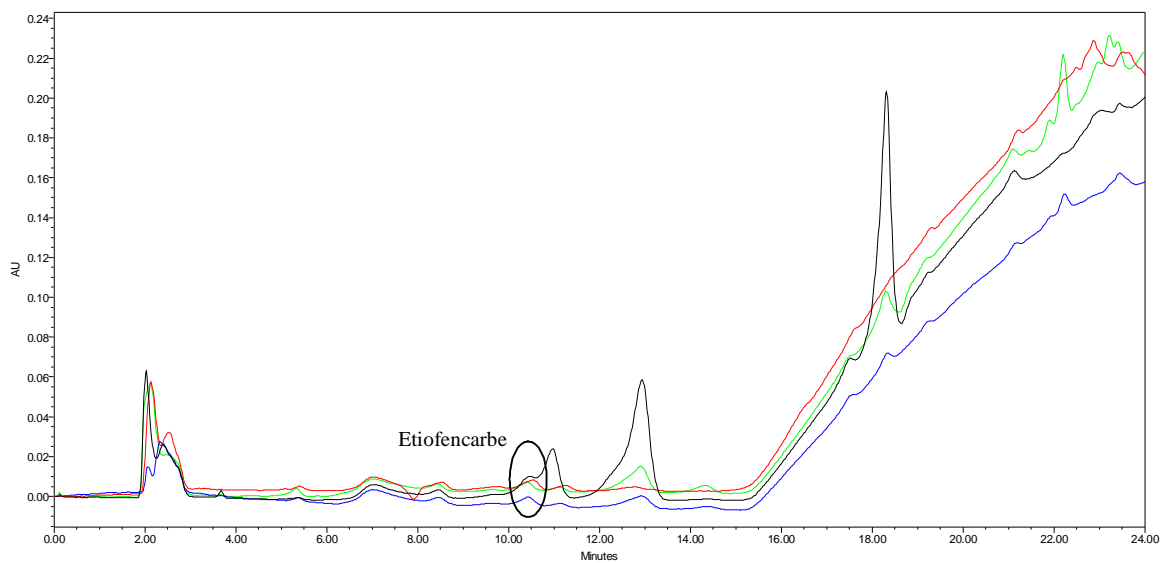


Fig. 49: Sobreposição dos cromatogramas obtido por HPLC-DAD para o pesticida etiofencarbe ($\lambda=192,2$ nm) em: ■ 0 dias, ■ 7 dias, ■ 30 dias e ■ 1 ano.

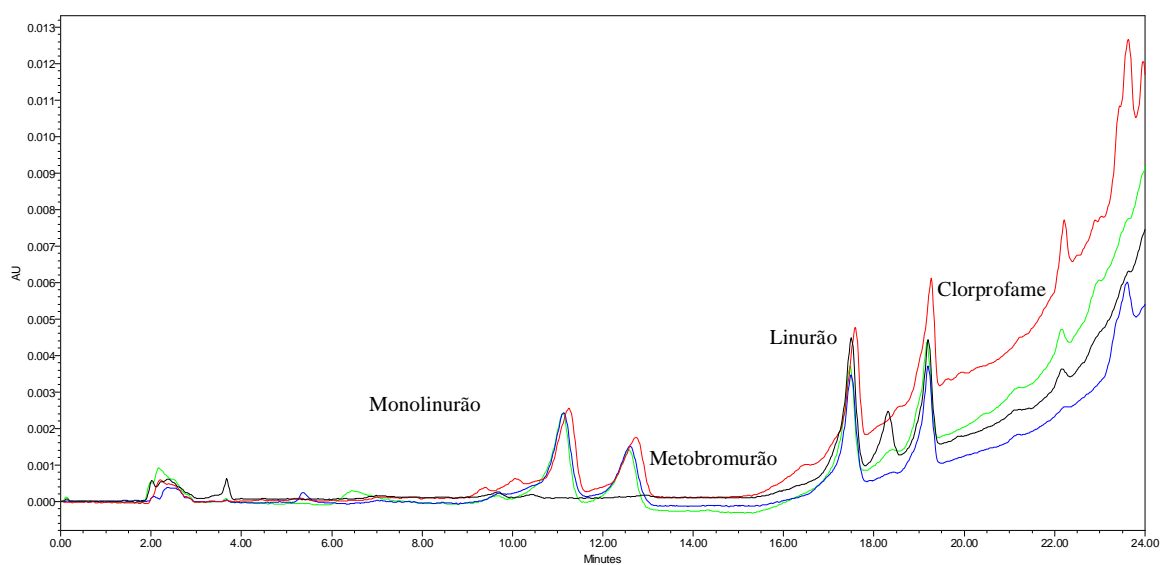


Fig. 50: Sobreposição dos cromatogramas obtido por HPLC-DAD para os pesticidas monolinurão, metobromurão, linurão e clorprofame ($\lambda=245,0$ nm) nos tempos de: ■ 0 dias, ■ 7 dias, ■ 30 dias e ■ 1 ano.

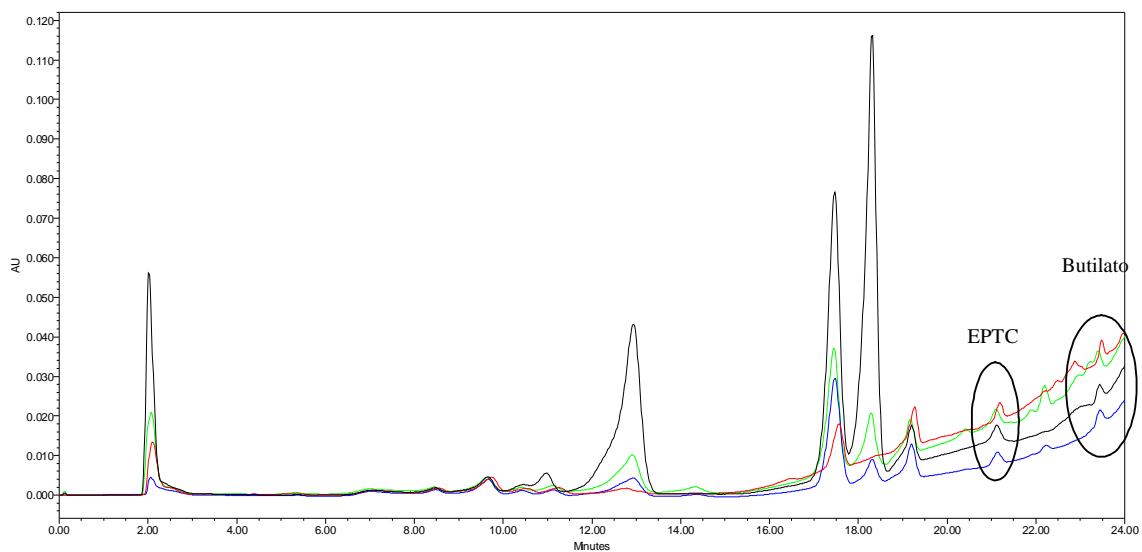


Fig. 51: Sobreposição dos cromatogramas obtido por HPLC-DAD para os pesticidas EPTC e butilato ($\lambda=210,0$ nm) nos tempos de: ■ 0 dias, ■ 7 dias, ■ 30 dias e ■ 1 ano.

Na fig. 52 apresenta-se o cromatograma a 210,0 nm da evolução dos PD ao longo do tempo. Apresentando-se no cromatograma a respectiva identificação e o valor de comprimento de onda obtido para cada PD.

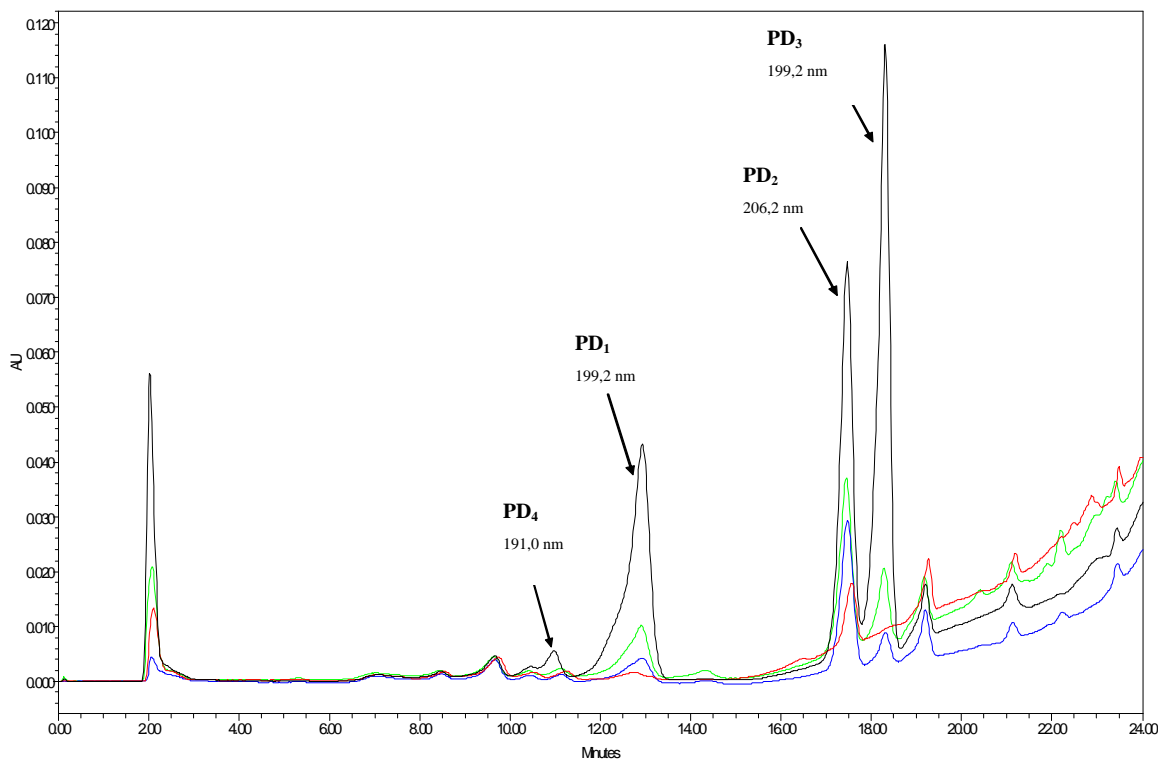


Fig. 52: Sobreposição dos cromatogramas obtido por HPLC-DAD a 210,0 nm para os produtos de degradação PD₁, PD₂, PD₃, PD₄ em: ■ 0 dias, ■ 7 dias, ■ 30 dias e ■ 1 ano.

O produto de degradação PD₄ (tr=10,97 minutos) aparece entre o pesticida etiofencarbe (tr=10,69 minutos) e o pesticida monolinurão (tr=11,36 minutos). O PD₂ aparece no mesmo tempo de retenção do linurão (tr=17,68 minutos). Apenas é possível ter a certeza que o PD₄ não resulta da degradação dos pesticidas monolinurão e metobromurão, uma vez que a solução de padrão misto de 365 dias não continha os pesticidas monolinurão e metobromurão e este produto de degradação só apareceu na injeção de 365 dias. Para completar este estudo seria necessário identificar os produtos de degradação de todos os pesticidas em estudo e posteriormente injectar soluções padrão desses produtos de degradação.

De acordo com os resultados obtidos e expressos na tab. 23 a solução padrão misto contendo todos os pesticidas em estudo mantém-se aproximadamente estável durante um período de 7 dias, a partir do qual novas soluções têm que ser preparadas.

3.4. Optimização do processo de extracção assistida por microondas (MAE)

3.4.1. Considerações

Para a quantificação dos pesticidas em estudo (butilato, carbaril, carbofurão, clorprofame, EPTC, etiofencarbe, linurão, metobromurão e monolinurão) nas matrizes de solo e no tomate, usou-se a técnica de extracção MAE com o sistema analítico HPLC-DAD.

Nos dias actuais, a procura de processos mais limpos e eficientes tem sido considerado relevante pela comunidade científica devido aos aspectos ambientais^[265]. No processo de extracção por MAE, desenvolvido neste trabalho, estudou-se a influência de parâmetros como a temperatura e o solvente de extracção, apresentando-se neste capítulo os resultados obtidos da percentagem de recuperação para cada extracção. Os restantes parâmetros de extracção foram mantidos constantes em todos os ensaios efectuados, quer na optimização do solvente e temperatura de extracção, quer na extracção de amostras reais. Todos os valores dos parâmetros de extracção utilizados estão referenciados na tab. 15 no capítulo de materiais e métodos (subcapítulo 2.4.3).

Os pesticidas da família dos carbamatos e ureias são polares e termolábeis^[88, 101, 107]. A extracção deverá ser realizada o mais rapidamente possível e a temperatura não deverá ser superior a 80 °C^[107]. Neste estudo as temperaturas de extracção estudadas foram de 60, 70 e 80 °C.

A escolha do solvente de extracção foi efectuada de acordo com as propriedades do solvente e a solubilidade dos analitos no solvente de extracção^[107]. Os solventes com elevada constante dieléctrica absorvem fortemente energia na gama das microondas, como por exemplo: a água, o metanol e a acetona^[107, 266]. A mistura hexano-acetona (1:1, v/v) é considerada pela EPA um bom solvente na extracção de pesticidas em matrizes ambientais utilizando como processo de extracção MAE^[104, 246].

Na tabela seguinte (tab. 24) são referidos alguns solventes utilizados por diversos autores e a respectiva constante dieléctrica a uma frequência de 3 GHz à temperatura de 25 °C^[107, 266].

Apresenta-se na tab. 25, o resumo dos resultados obtidos dos artigos encontrados, relativo às condições de extracção por MAE de pesticidas da família dos carbamatos e das ureias.

Tab. 24: Constante dieléctrica (ϵ') para diferentes solventes e mistura de solventes a uma frequência de 3 GHz à temperatura de 25 °C^[107, 266].

| Solventes/mistura de solventes | ϵ' |
|---------------------------------|-------------|
| Acetonitrilo (solvente polar) | 38,2 |
| Acetona (solvente polar) | 21,0 |
| Água (solvente polar) | 76,7 |
| Diclorometano (solvente apolar) | 8,93 |
| Etanol (solvente polar) | 24,3 |
| Hexano (solvente apolar) | 1,90 |
| Hexano-acetona (1:4, v/v) | 13,4 |
| Hexano-acetona (4:1, v/v) | 3,30 |
| Hexano-acetona (1:1, v/v) | 11,5 |
| Metanol (solvente polar) | 32,6 |

Tab. 25: Solventes de extracção e gama de temperatura de extracção utilizadas por diferentes autores na extracção de pesticidas da família dos carbamatos e ureias.

| Classe/Pesticidas | | Matriz | Temperatura Extracção (°C) | Solventes de extracção testados | Condições mais adequadas para a extracção dos pesticidas estudados pelos autores | Ref. |
|-----------------------|----------------------------------|--------|----------------------------|---|---|-------|
| Fenilureias | Monurão | Solos | 40 | Diclorometano | Solvente de extracção: Diclorometano-metanol (9:1, v/v) Temperatura de extracção: 60 a 80 °C | [114] |
| | <u>Monolinurão</u> ^R | | 60 | Diclorometano-metanol (9:1) | | |
| | Isoproturão | | 70 | Diclorometano-água (5:1) | | |
| | <u>Metobromurão</u> ^R | | 80 | Metanol-água (7:3) | | |
| | Diurão | | 100 | Metanol-água (9:1) | | |
| | | | | | | |
| Sulfonilureias | | Solos | 60 | 0,1% de ácido trifluoroacético em 20 mL de diclorometano-metanol (9:1, v/v) | | [222] |
| Carbamatos | Propoxur | Solos | 95 | Água | Solvente de extracção: Metanol Temperatura de extracção: 95 °C | [107] |
| | Tiurame | | | Hexano-acetona (1:1, v/v) | | |
| | Profame | | | Hexano-acetona (4:1, v/v) | | |
| | Metiocarbe | | | Hexano-acetona (1:4, v/v) | | |
| | <u>Clorprofame</u> ^R | | | Diclorometano Metanol | | |
| Carbamatos | Propoxur | Solos | 80 | Hexano-acetona (1:1, v/v) | Solvente de extracção: Metanol Temperatura de extracção: 80 °C | [88] |
| | Profame | | | Metanol | | |
| | Metiocarbe | | | Diclorometano | | |
| | <u>Clorprofame</u> ^R | | | Acetato de etilo | | |
| | | | | | | |

^R Pesticida usado neste estudo.

Este estudo consiste no desenvolvimento de um método multiresíduo. A escolha dos solventes de extracção foi realizada de acordo com os seguintes critérios:

- Diclorometano-metanol (9:1, v/v) devido aos bons resultados descritos na literatura^[114] com a utilização desta mistura para a extracção de pesticidas da família das ureias em solos.
- Hexano-acetona (1:1, v/v) por esta mistura, como já referido anteriormente, ser recomendada pela EPA para a extracção de pesticidas em matrizes ambientais^[104, 246].
- Acetonitrilo, por ser um solvente polar (ter uma constante dieléctrica elevada; tab. 24).

3.4.2. Optimização das condições operatórias de extracção nas matrizes de solo

Na optimização da temperatura e do solvente de extracção, efectuou-se a contaminação dos solos do tipo I e tipo II, com uma solução de padrão misto com concentrações de 250 µg/L em todos os pesticidas (nível de contaminação de 50,0 µg_{pesticida}/kg_{solo}). As experiências foram conduzidas de acordo com o seguinte procedimento: efectuaram-se três extracções no microondas para cada solvente de extracção testado. Em cada extracção manteve-se constante o solvente de extracção (acetonitrilo, hexano-acetona (1:1, v/v) e diclorometano-metanol (9:1, v/v)) e fez-se variar a temperatura de extracção (60, 70 e 80 °C).

Pretende-se que o método de extracção assistida por MAE extraia o maior número dos pesticidas em estudo com boas percentagens de recuperação nas diversas matrizes (solos do tipo I e do tipo II e tomate). Apresenta-se de seguida as tabelas (tab. 26 e 27) com os resultados médios de cada percentagem de recuperação obtida nos solos para uma contaminação de 50,0 µg_{pesticida}/kg_{solo}, estando em anexo (anexo XI, Pág. 254 à 263), todos os resultados obtidos da percentagem de recuperação para cada solvente de extracção na gama de temperaturas estudada para os solos do tipo I e do tipo II.

Tab. 26: Percentagem de recuperação (% Rec), desvio padrão (s), coeficiente de variação (% CV) e número de ensaios efectuados (n) com os solventes de extracção: acetonitrilo, hexano-acetona (1:1, v/v) e diclorometano-metanol (9:1, v/v), nas temperaturas de 60, 70 e 80 °C no solo do tipo I, para uma contaminação de 50,00 µg_{pesticida}/kg_{solo}.

| Pesticidas | Solvente de extracção: Acetonitrilo | | | | | | | | | | | |
|--------------|---|------|------|---|--------------|-------|-------|---|--------------|------|-------|---|
| | 1ª Extracção | | | | 2ª Extracção | | | | 3ª Extracção | | | |
| | 60 °C | | | | 70 °C | | | | 80 °C | | | |
| | %Rec | s | %CV | n | %Rec | s | %CV | n | %Rec | s | %CV | n |
| Carbofurão | 77,18 | 2,07 | 2,69 | 6 | 101,8 | 1,66 | 1,63 | 4 | 94,55 | 1,44 | 1,53 | 4 |
| Carbaril | 101,7 | 1,48 | 1,45 | 6 | 100,1 | 1,81 | 1,81 | 4 | 104,7 | 1,07 | 1,02 | 4 |
| Etiofencarbe | 141,1 | 11,0 | 7,76 | 6 | 105,3 | 1,63 | 1,55 | 4 | 99,91 | 1,60 | 1,60 | 4 |
| Monolinurão | 112,8 | 1,66 | 1,47 | 6 | 106,5 | 2,15 | 2,02 | 4 | 107,8 | 1,82 | 1,69 | 4 |
| Metobromurão | 122,9 | 2,19 | 1,78 | 6 | 99,63 | 2,38 | 2,39 | 4 | 101,9 | 2,81 | 2,76 | 4 |
| Linurão | 103,5 | 1,45 | 1,40 | 6 | 100,2 | 0,490 | 0,490 | 4 | 92,66 | 1,27 | 1,37 | 4 |
| Clorprofame | 107,2 | 1,96 | 1,82 | 6 | 120,3 | 3,43 | 2,85 | 4 | 108,9 | 4,23 | 3,88 | 4 |
| EPTC | 293,3 | 10,5 | 3,59 | 6 | 8,22 | 1,88 | 22,91 | 4 | 23,55 | 3,93 | 16,7 | 4 |
| Butilato | n.d. | | | 6 | 23,41 | 2,93 | 12,51 | 4 | 46,89 | 3,58 | 7,63 | 4 |
| | Solvente de extracção: Hexano-acetona (1:1, v/v) | | | | | | | | | | | |
| | 60 °C | | | | 70 °C | | | | 80 °C | | | |
| | %Rec | s | %CV | n | %Rec | s | %CV | n | %Rec | s | %CV | n |
| | %Rec | s | %CV | n | %Rec | s | %CV | n | %Rec | s | %CV | n |
| Carbofurão | 74,71 | 2,04 | 2,73 | 5 | 92,55 | 2,35 | 2,54 | 4 | 84,15 | 1,23 | 1,46 | 4 |
| Carbaril | 98,17 | 1,76 | 1,79 | 6 | 99,18 | 1,52 | 1,53 | 4 | 105,7 | 2,51 | 2,38 | 4 |
| Etiofencarbe | n.d. | | | 6 | n.d. | | | 4 | n.d. | | | 4 |
| Monolinurão | 116,7 | 2,49 | 2,13 | 6 | 95,34 | 1,73 | 1,81 | 4 | 96,64 | 2,24 | 2,32 | 4 |
| Metobromurão | 124,8 | 2,02 | 1,62 | 6 | 98,99 | 2,09 | 2,11 | 4 | 100,9 | 1,69 | 1,67 | 4 |
| Linurão | 100,5 | 1,62 | 1,61 | 6 | 99,53 | 1,64 | 1,65 | 4 | 102,6 | 1,69 | 1,64 | 4 |
| Clorprofame | 101,5 | 1,84 | 1,82 | 6 | 123,2 | 1,96 | 1,59 | 4 | 103,8 | 1,24 | 1,20 | 4 |
| EPTC | n.d. | | | 6 | 60,20 | 3,13 | 5,20 | 4 | 45,94 | 1,43 | 3,11 | 4 |
| Butilato | 65,05 | 5,71 | 8,77 | 6 | 9,53 | 2,95 | 31,0 | 4 | 41,18 | 3,54 | 8,59 | 4 |
| | Solvente de extracção: Diclorometano-metanol (9:1, v/v) | | | | | | | | | | | |
| | 60 °C | | | | 70 °C | | | | 80 °C | | | |
| | %Rec | s | %CV | n | %Rec | s | %CV | n | %Rec | s | %CV | n |
| | %Rec | s | %CV | n | %Rec | s | %CV | n | %Rec | s | %CV | n |
| Carbofurão | 79,74 | 2,03 | 2,54 | 6 | 40,94 | 2,19 | 5,35 | 4 | 49,46 | 1,42 | 2,87 | 4 |
| Carbaril | 93,94 | 1,60 | 1,70 | 6 | 75,22 | 2,37 | 2,19 | 4 | 96,29 | 2,24 | 2,23 | 4 |
| Etiofencarbe | n.d. | | | 6 | 41,28 | 3,96 | 3,23 | 4 | 97,79 | 1,50 | 0,910 | 4 |
| Monolinurão | 121,4 | 3,60 | 2,97 | 6 | 76,93 | 3,79 | 4,93 | 4 | 106,2 | 2,24 | 2,11 | 4 |
| Metobromurão | 118,4 | 3,40 | 2,87 | 6 | 79,78 | 2,59 | 3,25 | 4 | 106,0 | 2,50 | 2,36 | 4 |
| Linurão | 103,3 | 2,50 | 2,42 | 6 | 79,06 | 3,21 | 4,07 | 4 | 75,25 | 4,41 | 5,85 | 4 |
| Clorprofame | 93,89 | 2,02 | 2,15 | 6 | 84,82 | 1,97 | 2,33 | 4 | 78,97 | 1,70 | 2,16 | 4 |
| EPTC | 33,10 | 2,46 | 7,44 | 6 | 2,96 | 2,16 | 73,2 | 4 | 15,13 | 1,67 | 11,1 | 4 |
| Butilato | 103,2 | 1,74 | 1,69 | 6 | n.d. | | | 4 | n.d. | | | 4 |

n.d.-não detectado

De acordo com os resultados da percentagem de recuperação expressos na tab. 26 concluiu-se que para o nível de contaminação estudado ($50,0 \mu\text{g}_{\text{pesticida}}/\text{kg}_{\text{solo}}$):

- os solventes de extracção: hexano-acetona (1:1, v/v) a 60, 70 e 80 °C e diclorometano-metanol (9:1, v/v) a 60 °C não permitem a extracção do pesticida etiofencarbe na matriz do solo do tipo I, ou seja, não extrai ao nível de concentração estudado;
- os solventes de extracção: diclorometano-metanol (9:1, v/v) a 70 e 80 °C e acetonitrilo a 60 °C, não extraem o pesticida butilato da matriz do solo do tipo I;
- o solvente de extracção hexano-acetona (1:1, v/v) a 60 °C não extrai o pesticida EPTC na matriz do solo do tipo I;
- o acetonitrilo a 70 e 80 °C permite a extracção de todos os pesticidas da matriz do solo do tipo I, embora com baixas percentagens de recuperação para os pesticidas EPTC e butilato.

A percentagem de recuperação para os pesticidas etiofencarbe, EPTC e butilato oscila com a temperatura e o solvente de extracção. Para o pesticida etiofencarbe o melhor solvente e temperatura de extracção são o acetonitrilo a 70 °C obtendo uma percentagem de recuperação elevada ($105,3 \pm 1,63 \%$). Para o pesticida EPTC o melhor solvente e temperatura de extracção são o hexano-acetona (1:1, v/v) a 70 °C obtendo uma percentagem de recuperação de $60,20 \pm 3,13 \%$. Para o pesticida butilato o melhor solvente e temperatura de extracção são respectivamente, o diclorometano-metanol (9:1, v/v) a 60 °C obtendo uma percentagem de recuperação de $103,2 \pm 1,74 \%$.

Obtêm-se melhores resultados de percentagem de recuperação utilizando como solvente de extracção o acetonitrilo a 70 °C para os pesticidas carbofurão, etiofencarbe, linurão, clorprofame e a 80 °C para o pesticida carbaril. Para os pesticidas monolinurão e metobromurão nas duas temperaturas (70 e 80 °C) as percentagens de recuperação obtidas são semelhantes, enquanto que para os pesticidas EPTC e butilato são abaixo de 50 %.

Para os pesticidas carbofurão, carbaril, etiofencarbe, monolinurão, metobromurão e linurão utilizando o acetonitrilo a 70 °C as percentagens de recuperação obtidas são muito próximas entre eles variam de $99,63 \pm 2,38$ a $106,5 \pm 2,13 \%$, enquanto que na temperatura de 80 °C o intervalo de recuperação é maior de $92,66 \pm 1,27$ a $107,8 \pm 1,82 \%$.

Conclui-se que o solvente e a temperatura mais adequada de extracção para o solo do tipo I contaminado com $50,0 \mu\text{g}_{\text{pesticida}}/\text{kg}_{\text{solo}}$ seriam o acetonitrilo a 70 °C.

Tab. 27: Percentagem de recuperação (% Rec), desvio padrão (s), coeficiente de variação (% CV) e número de ensaios efectuados (n) com os solventes de extracção: acetonitrilo, hexano-acetona (1:1, v/v) e diclorometano-metanol (9:1, v/v), nas temperaturas de 60, 70 e 80 °C no solo do tipo II, para uma contaminação de 50,00 µg_{pesticida}/kg_{solo}.

| Pesticidas | Solvente de extracção: Acetonitrilo | | | | | | | | | | | |
|--------------|---|------|------|---|--------------|-------|------|---|--------------|-------|------|---|
| | 1ª Extracção | | | | 2ª Extracção | | | | 3ª Extracção | | | |
| | 60 °C | | | | 70 °C | | | | 80 °C | | | |
| | %Rec | s | %CV | n | %Rec | s | %CV | n | %Rec | s | %CV | n |
| Carbofurão | 87,64 | 1,91 | 2,18 | 6 | 82,03 | 1,91 | 2,32 | 8 | 60,58 | 2,28 | 3,76 | 4 |
| Carbaril | 100,5 | 1,45 | 1,45 | 6 | 98,92 | 2,11 | 2,14 | 8 | 97,27 | 1,43 | 1,47 | 4 |
| Etiofencarbe | 30,55 | 2,63 | 8,61 | 6 | 45,30 | 2,71 | 5,97 | 4 | n.d. | | | 4 |
| Monolinurão | 117,7 | 2,41 | 2,05 | 6 | 87,18 | 2,76 | 3,17 | 8 | 85,78 | 1,11 | 1,29 | 4 |
| Metobromurão | 90,99 | 2,52 | 2,77 | 6 | 81,45 | 1,97 | 2,42 | 8 | 76,78 | 0,900 | 1,17 | 4 |
| Linurão | 95,36 | 1,78 | 1,87 | 6 | 76,76 | 1,99 | 2,60 | 8 | 77,40 | 1,88 | 2,43 | 4 |
| Clorprofame | 58,58 | 1,84 | 3,14 | 6 | 94,40 | 3,18 | 3,37 | 8 | 88,24 | 2,28 | 2,58 | 4 |
| EPTC | 27,74 | 7,41 | 26,7 | 6 | 38,05 | 2,89 | 7,60 | 4 | 26,93 | 5,80 | 21,5 | 4 |
| Butilato | n.d. | | | 6 | 49,16 | 5,31 | 10,8 | 4 | 44,40 | 6,07 | 13,7 | 4 |
| | Solvente de extracção: Hexano-acetona (1:1, v/v) | | | | | | | | | | | |
| | 60 °C | | | | 70 °C | | | | 80 °C | | | |
| | %Rec | s | %CV | n | %Rec | s | %CV | n | %Rec | s | %CV | n |
| | %Rec | s | %CV | n | %Rec | s | %CV | n | %Rec | s | %CV | n |
| Carbofurão | 81,96 | 2,00 | 2,44 | 6 | 82,95 | 1,65 | 1,99 | 4 | 52,90 | 2,08 | 3,93 | 4 |
| Carbaril | 102,9 | 2,84 | 2,76 | 6 | 90,98 | 1,49 | 1,64 | 4 | 97,85 | 1,67 | 1,71 | 4 |
| Etiofencarbe | 17,88 | 1,55 | 8,68 | 6 | 3,20 | 0,710 | 22,2 | 4 | n.d. | | | 4 |
| Monolinurão | 105,0 | 2,72 | 2,60 | 6 | 91,12 | 2,28 | 2,50 | 4 | 83,41 | 1,24 | 1,49 | 4 |
| Metobromurão | 108,5 | 1,95 | 1,80 | 6 | 93,93 | 2,02 | 2,15 | 4 | 79,08 | 2,18 | 2,76 | 4 |
| Linurão | 82,02 | 1,20 | 1,46 | 6 | 83,54 | 2,09 | 2,51 | 4 | 79,55 | 0,86 | 1,08 | 4 |
| Clorprofame | 49,83 | 3,48 | 6,98 | 6 | 91,72 | 2,16 | 2,35 | 4 | 96,50 | 1,83 | 1,90 | 4 |
| EPTC | n.d. | | | 6 | 5,62 | 2,60 | 46,2 | 4 | n.d. | | | 4 |
| Butilato | n.d. | | | 6 | 14,72 | 4,86 | 33,0 | 4 | n.d. | | | 4 |
| | Solvente de extracção: Diclorometano-metanol (9:1, v/v) | | | | | | | | | | | |
| | 60 °C | | | | 70 °C | | | | 80 °C | | | |
| | %Rec | s | %CV | n | %Rec | s | %CV | n | %Rec | s | %CV | n |
| | %Rec | s | %CV | n | %Rec | s | %CV | n | %Rec | s | %CV | n |
| Carbofurão | 37,59 | 1,62 | 4,30 | 6 | 98,07 | 2,51 | 2,55 | 4 | 50,93 | 1,52 | 2,99 | 4 |
| Carbaril | 84,76 | 1,45 | 1,71 | 6 | 107,8 | 3,90 | 1,27 | 4 | 100,8 | 1,86 | 1,56 | 4 |
| Etiofencarbe | 11,99 | 0,90 | 7,52 | 6 | 73,98 | 2,71 | 2,45 | 4 | n.d. | | | 4 |
| Monolinurão | 106,2 | 2,32 | 2,18 | 6 | 97,48 | 1,36 | 1,39 | 4 | 85,94 | 1,86 | 2,16 | 4 |
| Metobromurão | 90,36 | 2,41 | 2,67 | 6 | 89,43 | 2,13 | 2,38 | 4 | 79,26 | 1,96 | 2,48 | 4 |
| Linurão | 92,81 | 2,46 | 2,65 | 6 | 70,53 | 1,04 | 1,48 | 4 | 81,87 | 1,92 | 2,35 | 4 |
| Clorprofame | 52,95 | 3,71 | 7,02 | 6 | 68,93 | 1,38 | 2,00 | 4 | 83,70 | 1,49 | 1,79 | 4 |
| EPTC | n.d. | | | 6 | 18,90 | 0,78 | 4,15 | 4 | 26,33 | 3,95 | 15,0 | 4 |
| Butilato | n.d. | | | 6 | 29,94 | 2,04 | 6,81 | 3 | 37,04 | 1,61 | 4,35 | 4 |

n.d.-não detectado

De acordo com os resultados expressos na tab. 27, concluiu-se que se obteve melhores resultados de percentagem de recuperação para:

- os pesticidas clorprofame, EPTC e butilato ao utilizar o solvente de extracção acetonitrilo a 70 °C;
- os pesticidas metobromurão e linurão ao utilizar o solvente de extracção hexano-acetona (1:1, v/v) a 70 °C;
- os pesticidas carbofurão, carbaril, etiofencarbe e monolinurão ao utilizar o solvente de extracção diclorometano-metanol (9:1, v/v) a 70 °C.

e a não detecção dos pesticidas, ao nível de concentração estudado para:

- etiofencarbe quando se utiliza como solventes de extracção: o acetonitrilo a 80 °C, o hexano-acetona (1:1, v/v) a 80 °C e o diclorometano-metanol (9:1, v/v) a 80 °C;
- EPTC quando se utiliza como solventes de extracção: o hexano-acetona (1:1, v/v) a 60 e 80 °C e o diclorometano-metanol (9:1, v/v) a 60 °C;
- Butilato quando se utiliza como solventes de extracção: o acetonitrilo a 60 °C, o hexano-acetona (1:1, v/v) a 60 e 80 °C e o diclorometano-metanol (9:1, v/v) a 60 °C.

Ao utilizar como solvente de extracção o hexano-acetona (1:1, v/v) a 70 °C, embora detecte todos os pesticidas, a percentagem de recuperação para os pesticidas: etiofencarbe, EPTC e butilato é muito baixa (< 15 %). Por isso a dúvida da escolha do solvente óptimo de extracção a 70 °C será entre o acetonitrilo e o diclorometano-metanol (9:1, v/v).

A temperatura mais adequada e solvente de extracção mais adequado para a extracção de todos os pesticidas em estudo, na matriz do solo do tipo II seria o diclorometano-metanol (9:1, v/v) a 70 °C, uma vez que as percentagens de recuperação obtidas para os pesticidas: carbofurão, carbaril, etiofencarbe, monolinurão e metobromurão são mais elevadas do que as obtidas usando como solvente de extracção o acetonitrilo a 70 °C. No entanto como se pode observar na tab. 20 no subcapítulo 3.1 (caracterização das matrizes) verifica-se que a matriz do solo do tipo I possui 0,03 % de humidade e um baixo teor natural de matéria orgânica enquanto que na matriz do solo do tipo II possui 15,21 % de humidade e um alto teor natural de matéria orgânica (3,69 %), temos dois extremos de solo. Para se poder utilizar o mesmo processo extractivo, em qualquer solo que esteja contaminado, teremos de utilizar a mesma temperatura e o mesmo solvente de extracção.

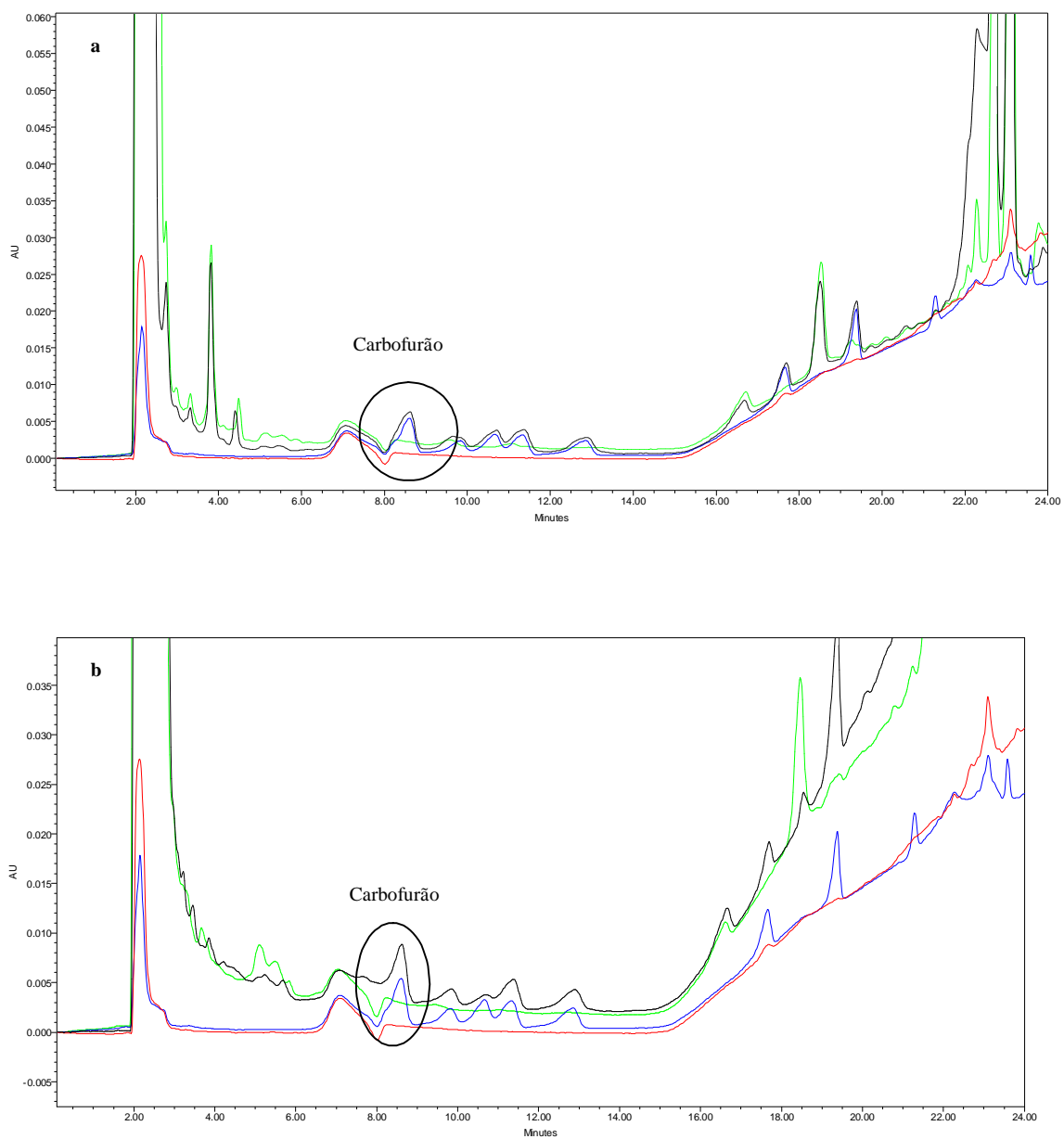
Ao analisar os resultados da percentagem de recuperação expressos nas tab. 26 e 27 para os dois solventes de extracção (acetonitrilo e diclorometano-metanol (9:1, v/v)) a 70 °C verifica-se, ao nível de concentração estudado:

| | Solo do tipo I (tab. 26) | Solo do tipo II (tab. 27) |
|--|-------------------------------------|--------------------------------------|
| Acetonitrilo, 70 °C | Detecta todos os pesticidas | Detecta todos os pesticidas |
| Diclorometano-metanol (9:1, v/v), 70 °C | <u>Não detecta</u> o butilato | Detecta todos os pesticidas |

Ao utilizar o diclorometano-metanol (9:1, v/v) a 70 °C na análise de amostras reais de solo do tipo I contaminado, não permitiria a detecção do pesticida butilato se este estivesse presente na matriz. A mistura diclorometano-metanol (9:1, v/v) é mais tóxica do que o acetonitrilo.

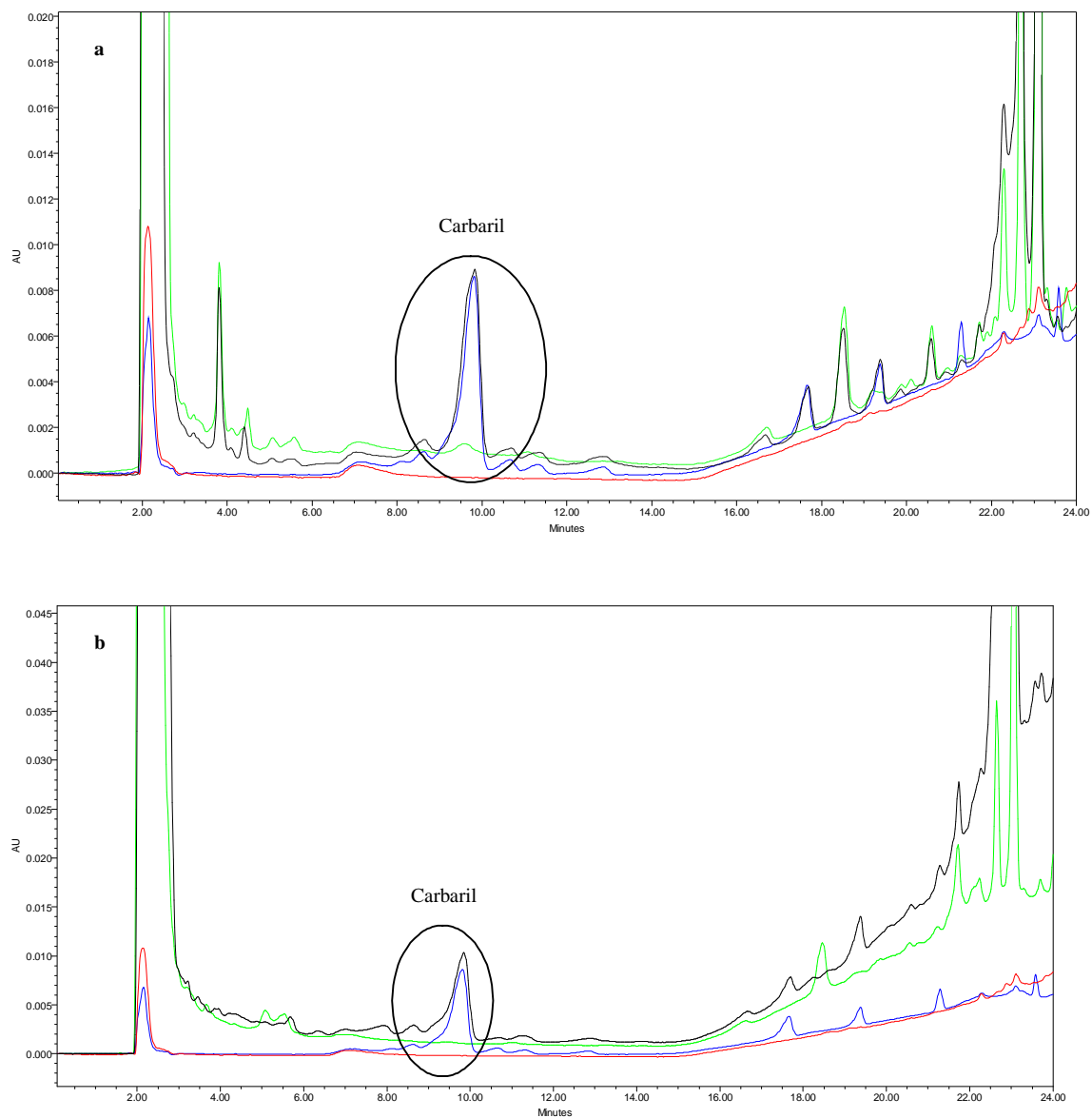
Concluiu-se que a temperatura mais adequada e o solvente de extracção mais adequado, utilizando como processo de extracção a extracção assistida por microondas (MAE) em solos contaminados com pesticidas da família dos carbamatos e ureias seria o acetonitrilo a 70 °C.

Para a temperatura mais adequada e o solvente de extracção mais adequado escolhidos nos ensaios efectuados (acetonitrilo a 70 °C), na matriz do solo do tipo I e do tipo II, ilustra-se da fig. 53 à fig. 57 os comprimentos de ondas característicos de cada pesticida, a sobreposição dos cromatogramas de: solução padrão misto de concentração 250 µg/L em cada pesticida, solo contaminado com um nível de contaminação de 50,0 µg/kg, acetonitrilo (branco do solvente) e solo não contaminado (branco da matriz).



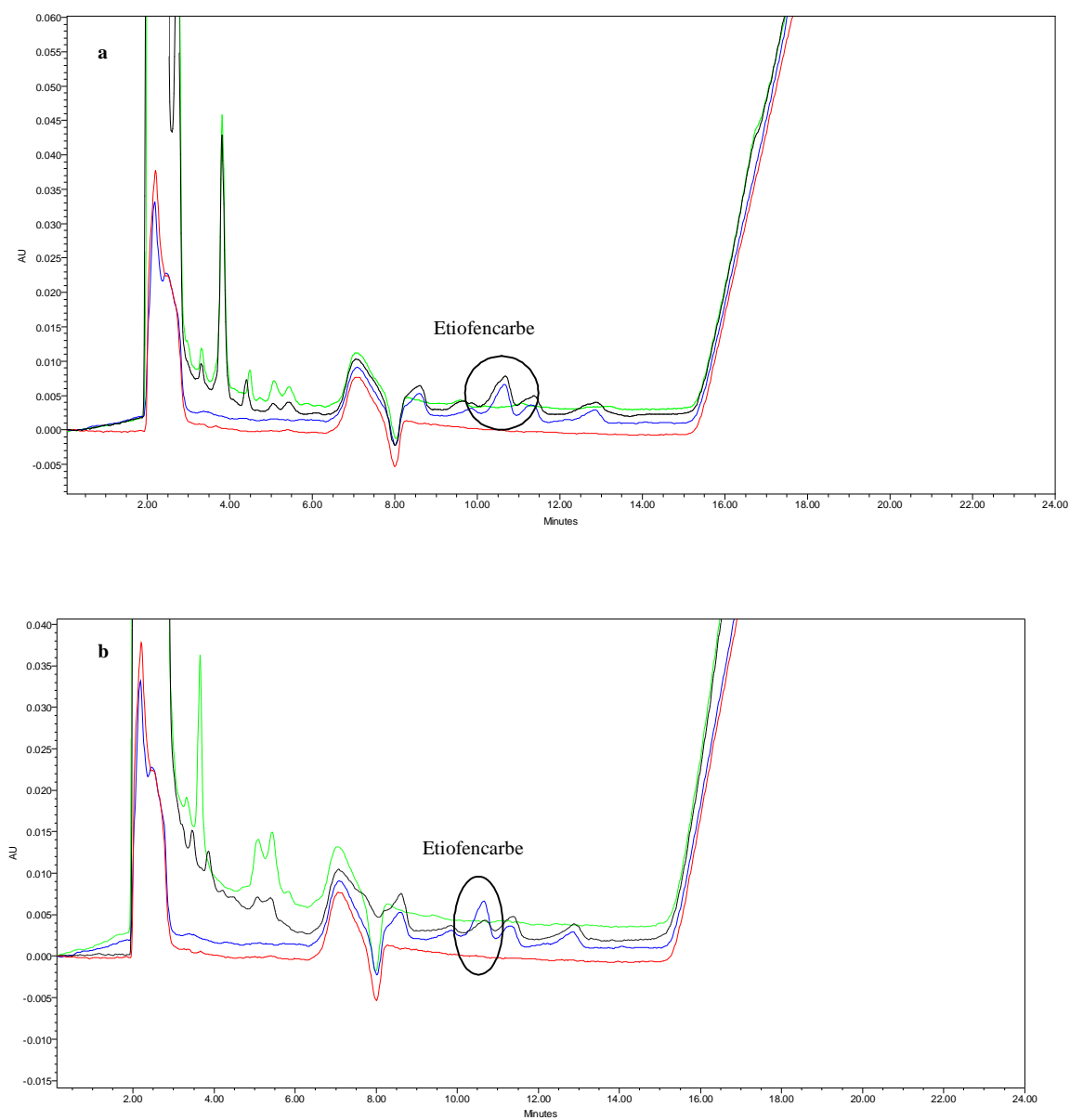
Legenda: ■ solução padrão misto em acetonitrilo (concentração 250 µg/L em cada pesticida), ■ solo contaminado com um nível de contaminação de 50,0 µg_{pesticida}/kg_{solo}, ■ acetonitrilo (branco do solvente) e ■ solo não contaminado (branco da matriz).

Fig. 53: Sobreposição dos cromatogramas a 199,2 nm (carbofurão) de: **a)** solo do tipo I e **b)** solo do tipo II.



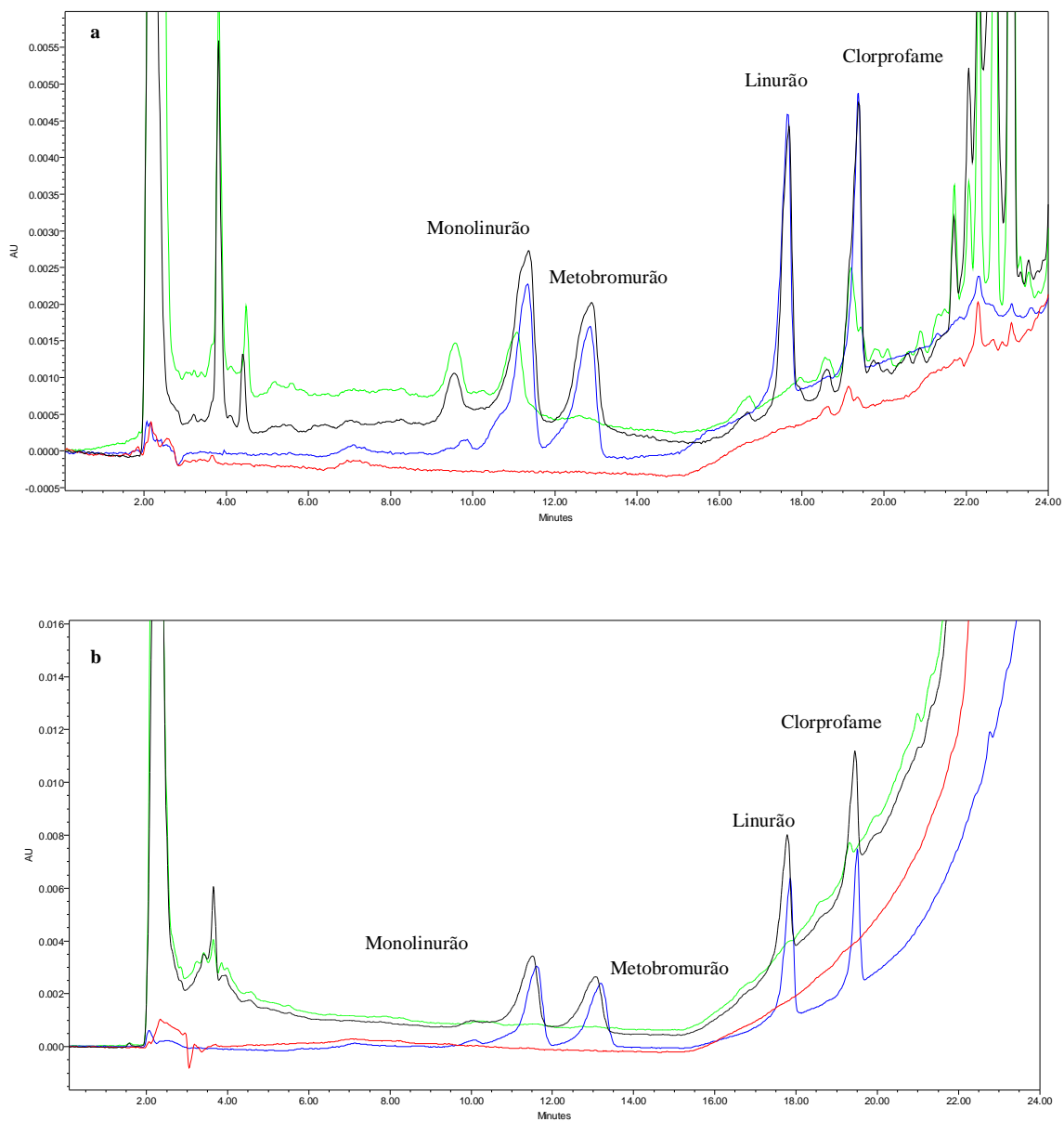
Legenda: ■ solução padrão misto em acetonitrilo (concentração 250 µg/L em cada pesticida), ■ solo contaminado com um nível de contaminação de 50,0 µg_{pesticida}/kg_{solo}, ■ acetonitrilo (branco do solvente) e ■ solo não contaminado (branco da matriz).

Fig. 54: Sobreposição dos cromatogramas a 221,4 nm (carbaril) de: **a)** solo do tipo I e **b)** solo do tipo II.



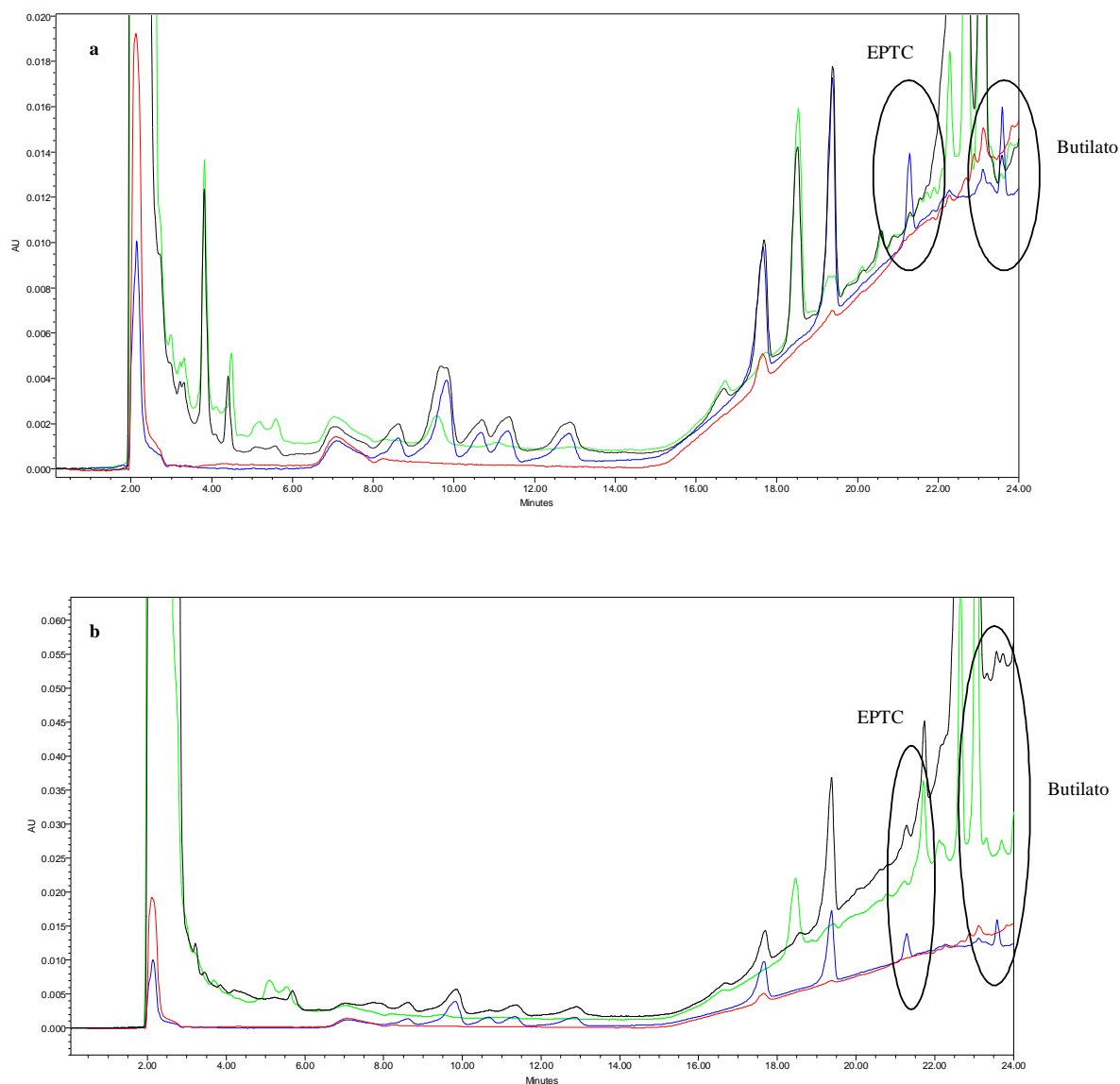
Legenda: ■ solução padrão misto em acetonitrilo (concentração 250 µg/L em cada pesticida), ■ solo contaminado com um nível de contaminação de 50,0 µg_{pesticida}/kg_{solo}, ■ acetonitrilo (branco do solvente) e ■ solo não contaminado (branco da matriz).

Fig. 55: Sobreposição dos cromatogramas a 192,2 nm (etiofencarbe) de: **a)** solo do tipo I e **b)** solo do tipo II.



Legenda: ■ solução padrão misto em acetonitrilo (concentração 250 µg/L em cada pesticida), ■ solo contaminado com um nível de contaminação de 50,0 µg_{pesticida}/kg_{solo}, ■ acetonitrilo (branco do solvente) e ■ solo não contaminado (branco da matriz).

Fig. 56: Sobreposição dos cromatogramas a 245,0 nm (monolinurão, metobromurão, linurão e clorprofame) de: **a)** solo do tipo I e **b)** solo do tipo II.



Legenda: ■ solução padrão misto em acetonitrilo (concentração 250 µg/L em cada pesticida), ■ solo contaminado com um nível de contaminação de 50,0 µg_{pesticida}/kg_{solo}, ■ acetonitrilo (branco do solvente) e ■ solo não contaminado (branco da matriz).

Fig. 57: Sobreposição dos cromatogramas a 210,0 nm (EPTC e butilato) de: **a)** solo do tipo I e **b)** solo do tipo II.

Utilizando as condições de temperatura e solvente de extracção mais adequadas, realizaram-se posteriormente dois ensaios:

- No primeiro ensaio contaminou-se as duas matrizes de solo (tipo I e II), a diferentes níveis 30,0, 50,0 e 70,0 $\mu\text{g}_{\text{pesticida}}/\text{kg}_{\text{solo}}$, a extracção foi realizada após 24 hr da contaminação;
- No segundo ensaio contaminou-se as duas matrizes de solo (tipo I e II) com um nível de contaminação de 50,0 $\mu\text{g}_{\text{pesticida}}/\text{kg}_{\text{solo}}$ (os vials foram guardados a -18 °C contendo a matriz contaminada com os pesticidas) e a extracção foi realizada após 1 mês da contaminação.

Os resultados obtidos a diferentes níveis de contaminação nos dois ensaios no solo do tipo I e do tipo II encontram-se na tab. 28.

Tab. 28: Percentagem de recuperação (% Rec), desvio padrão (s), coeficiente de variação (% CV) e número de ensaios efectuados (n) para a extracção assistida por microondas (MAE) a diferentes níveis de contaminações na matriz do solo do tipo I e do tipo II, utilizando como solvente e a temperatura de extracção o acetoneitrilo a 70 °C.

| Pesticidas | Matriz | Extracção após 24 horas de contaminação | | | | | | | | | | | | Extracção após 1 mês de contaminação | | | |
|--------------|-----------------|--|------|------|---|--|-------|-------|---|--|------|------|---|--|------|------|---|
| | | 30,0 µg _{pesticida} /kg _{solo} | | | | 50,0 µg _{pesticida} /kg _{solo} | | | | 70,0 µg _{pesticida} /kg _{solo} | | | | 50,0 µg _{pesticida} /kg _{solo} | | | |
| | | %Rec | s | %CV | n | %Rec | s | %CV | n | %Rec | s | %CV | n | %Rec | s | %CV | n |
| Carbofurão | Solo do tipo I | 91,73 | 2,24 | 2,45 | 4 | 101,8 | 1,66 | 1,63 | 4 | 82,46 | 1,08 | 1,30 | 4 | 74,99 | 4,42 | 5,89 | 4 |
| Carbaril | | 87,01 | 2,23 | 2,57 | 4 | 100,1 | 1,81 | 1,81 | 4 | 100,4 | 1,35 | 1,35 | 4 | 93,15 | 4,09 | 4,39 | 4 |
| Etiofencarbe | | 82,29 | 3,13 | 3,80 | 4 | 105,3 | 1,63 | 1,55 | 4 | 93,98 | 2,26 | 2,41 | 4 | 60,44 | 3,24 | 5,35 | 4 |
| Monolinurão | | 112,5 | 4,36 | 3,87 | 4 | 106,5 | 2,15 | 2,02 | 4 | 102,2 | 3,04 | 2,97 | 4 | 63,23 | 3,44 | 5,45 | 4 |
| Metobromurão | | 89,67 | 4,01 | 4,47 | 4 | 99,63 | 2,38 | 2,39 | 4 | 99,51 | 1,34 | 1,35 | 4 | 71,19 | 3,50 | 4,91 | 4 |
| Linurão | | 78,29 | 3,85 | 4,92 | 4 | 100,2 | 0,490 | 0,490 | 4 | 95,90 | 1,05 | 1,10 | 4 | 66,85 | 5,54 | 8,28 | 4 |
| Clorprofame | | 72,61 | 2,85 | 3,93 | 4 | 120,3 | 3,43 | 2,85 | 4 | 106,9 | 2,42 | 2,26 | 4 | 50,15 | 3,10 | 6,17 | 4 |
| EPTC | | 9,82 | 1,80 | 18,4 | 4 | 8,22 | 1,88 | 22,9 | 4 | 9,97 | 2,20 | 22,0 | 4 | 28,11 | 6,38 | 22,7 | 4 |
| Butilato | | 32,27 | 7,55 | 23,4 | 4 | 23,41 | 2,93 | 12,5 | 4 | 31,57 | 6,06 | 19,2 | 4 | 39,10 | 18,1 | 46,3 | 4 |
| | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| | | Extracção após 24 horas de contaminação | | | | | | | | | | | | Extracção após 1 mês de contaminação | | | |
| | | 30,0 µg _{pesticida} /kg _{solo} | | | | 50,0 µg _{pesticida} /kg _{solo} | | | | 70,0 µg _{pesticida} /kg _{solo} | | | | 50,0 µg _{pesticida} /kg _{solo} | | | |
| | | %Rec | s | %CV | n | %Rec | s | %CV | n | %Rec | s | %CV | n | %Rec | s | %CV | n |
| Carbofurão | Solo do tipo II | 70,54 | 2,26 | 3,21 | 4 | 82,03 | 1,91 | 2,32 | 8 | 75,81 | 1,47 | 1,94 | 4 | 75,92 | 5,45 | 7,17 | 4 |
| Carbaril | | 88,17 | 3,60 | 4,09 | 4 | 98,92 | 2,11 | 2,14 | 8 | 97,52 | 1,20 | 1,23 | 4 | 102,8 | 8,06 | 7,84 | 4 |
| Etiofencarbe | | 69,58 | 2,68 | 3,86 | 4 | 45,30 | 2,71 | 5,97 | 4 | 15,21 | 1,17 | 7,67 | 4 | 15,74 | 2,81 | 17,8 | 4 |
| Monolinurão | | 90,33 | 3,61 | 3,99 | 4 | 87,18 | 2,76 | 3,17 | 8 | 90,16 | 2,43 | 2,70 | 4 | 75,11 | 6,87 | 9,14 | 4 |
| Metobromurão | | 81,64 | 2,27 | 2,78 | 4 | 81,45 | 1,97 | 2,42 | 8 | 92,04 | 2,32 | 2,52 | 4 | 79,39 | 6,92 | 8,72 | 4 |
| Linurão | | 77,44 | 2,90 | 3,75 | 4 | 76,76 | 1,99 | 2,60 | 8 | 86,78 | 1,38 | 1,59 | 4 | 66,56 | 4,39 | 6,59 | 4 |
| Clorprofame | | 80,27 | 1,06 | 1,32 | 4 | 94,40 | 3,18 | 3,37 | 8 | 75,80 | 1,53 | 2,01 | 4 | 82,22 | 4,03 | 4,90 | 4 |
| EPTC | | 18,29 | 4,19 | 22,9 | 4 | 38,05 | 2,89 | 7,60 | 4 | 12,62 | 1,82 | 14,5 | 4 | 36,67 | 4,81 | 13,1 | 4 |
| Butilato | | 37,99 | 3,95 | 10,4 | 4 | 49,16 | 5,31 | 10,8 | 4 | 37,11 | 2,01 | 5,41 | 4 | 37,05 | 6,93 | 18,7 | 4 |
| | | | | | | | | | | | | | | | | | |

No solo do tipo I, para a extracção efectuada após 24 hr da contaminação, verifica-se que para o nível de contaminação de $30,0 \mu\text{g}_{\text{pesticida}}/\text{kg}_{\text{solo}}$ relativamente aos outros dois níveis, as percentagens de recuperação são mais baixas para os pesticidas: carbaril, etiofencarbe, monolinurão, linurão e clorprofame. Nos pesticidas EPTC e butilato, mesmo aumentando a contaminação na matriz do solo do tipo I, os resultados de percentagem de recuperação não se alteram muito. Em todas as contaminações os coeficientes de variação para estes dois pesticidas são elevados. Para o nível de contaminação de $50,0 \mu\text{g}_{\text{pesticida}}/\text{kg}_{\text{solo}}$ nos dois ensaios realizados (extracção após 24 hr da contaminação e extracção após 1 mês da contaminação) verifica-se que existe uma diminuição da percentagem de recuperação para os pesticidas carbofurão, carbaril, etiofencarbe, monolinurão, metobromurão, linurão e clorprofame no ensaio da extracção após 1 mês da contaminação e os coeficientes de variação (% CV) são mais elevados quando comparados com os obtidos na extracção de 24 hr após a contaminação.

No solo do tipo II, para a extracção efectuada após 24 hr da contaminação, verifica-se para o pesticida etiofencarbe ocorre uma diminuição acentuada do valor de percentagem de recuperação com o aumento da contaminação. A percentagem de recuperação no nível de $30,0 \mu\text{g}_{\text{pesticida}}/\text{kg}_{\text{solo}}$ é menor quando comparado com os níveis de $50,0$ e $70,0 \mu\text{g}_{\text{pesticida}}/\text{kg}_{\text{solo}}$ para os pesticidas: carbofurão, carbaril, metobromurão e linurão. Quando realizado a comparação dos resultados da percentagem de recuperação nos dois ensaios (extracção após 24 hr da contaminação e extracção após 1 mês da contaminação) a $50,0 \mu\text{g}_{\text{pesticida}}/\text{kg}_{\text{solo}}$, verifica-se que existe uma diminuição da percentagem de recuperação para os pesticidas: carbofurão, etiofencarbe, monolinurão, metobromurão, linurão, clorprofame e butilato no ensaio da extracção após 1 mês da contaminação. Observando-se do mesmo modo a obtenção de coeficientes de variação (% CV) mais elevados na análise dos extractos de 1 mês após a contaminação.

Como se pode observar na tabela do anexo XII (Pág. 264) os pesticidas degradam-se no solo ao longo do tempo, a degradação mais rápida ocorre para o pesticida etiofencarbe^[98].

3.4.3. Quantidade de sulfato de sódio a adicionar às matrizes de vegetais (batata, cenoura, cebola e repolho) e do fruto tomate

No caso da detecção de pesticidas em produtos agrícolas, vários autores referem a adição de sulfato de sódio anidro antes do processo de extracção à matriz para a remoção da água presente. Efectuou-se um ensaio preliminar para a determinação da quantidade de sulfato de sódio anidro a adicionar. Na figura seguinte pode-se observar dois extractos com e sem adição de sulfato de sódio após extracção no microondas (fig. 58).

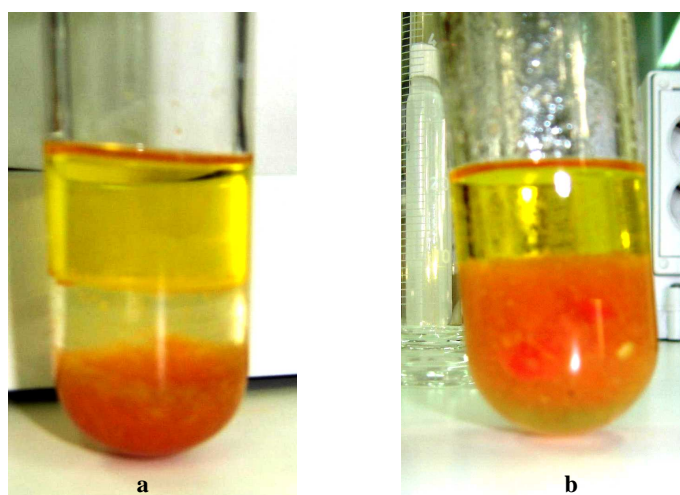


Fig. 58: Extracto de tomate após a extracção assistida no microondas (MAE): **a)** sem adição de sulfato de sódio anidro e **b)** com adição sulfato de sódio anidro.

O extracto obtido sem adição de sulfato de sódio anidro apresenta duas fases: a água presente na matriz e o solvente de extracção. Realizaram-se várias extracções utilizando como processo de extracção o MAE com proporções diferentes de sulfato de sódio anidro e a matriz, no qual a massa total (sulfato de sódio anidro e matriz), não ultrapassou 5 g^S. Dos resultados obtidos conclui-se que a quantidade suficiente de sulfato de sódio anidro a adicionar para a remoção da água presente nas matrizes em estudo, foi obtida para a proporção de 2:1 (m/m) de sulfato de sódio anidro-matriz.

^S Aumentando a massa ter-se-ia de aumentar o volume de solvente e a agitação de extracção de modo a promover um adequado contacto entre o solvente de extracção e a matriz a extrair.

3.4.4. Optimização das condições de extracção na matriz do tomate

Após a optimização das condições de extracção por MAE para os solos (solo do tipo I e do tipo II), procedeu-se à optimização das condições de extracção para a matriz do tomate. Os pesticidas em estudo são aplicados a diferentes produções agrícolas e o LRM a respeitar é diferente de acordo com a substância activa e o produto agrícola em que é aplicado (tab. 29). Consequentemente, contaminou-se a matriz do tomate com uma solução padrão misto com concentrações diferentes em cada pesticida. Na tab. 29 apresentam-se também o nível de contaminação I aplicado na matriz do tomate, apresentando-se em anexo XIII (Pág. 265 à 268), todos os resultados obtidos da percentagem de recuperação para cada solvente de extracção na gama de temperaturas estudada na matriz do tomate.

Os solventes de extracção testados foram: o acetonitrilo e as misturas: hexano-acetona (1:1, v/v) e diclorometano-metanol (9:1, v/v) a três temperaturas de 60, 70 e 80 °C. Os resultados obtidos da percentagem de recuperação utilizando os três solventes a diferentes temperaturas (60, 70 e 80 °C) estão representados na tab. 30.

Tab. 29: Limite máximo de resíduo (LMR) de cada pesticida estudado, aplicação da substância activa e contaminação (nível I) efectuada na matriz do tomate para cada pesticida.

| Pesticidas | LMR (µg/kg) | Aplicação | Nível I | |
|--------------|----------------|-----------------------|--|--|
| | | | Contaminação (µg _{pesticida} /kg _{tomate}) | Concentração em solução após pré-concentração (µg/L) |
| Carbofurão | 100 | Tomate | 60,0 | 100 |
| Carbaril | 1000 | Tomate | 48,0 | 80,0 |
| Etiofencarbe | - | Proibido | 60,0 | 100 |
| Monolinurão | - | Proibido | 60,0 | 100 |
| Metobromurão | - | Proibido | 60,0 | 100 |
| Linurão | 50-200 | Vários legumes/frutos | 60,0 | 100 |
| Clorprofame | 5000 | Batata | 60,0 | 100 |
| EPTC | 50 | Batata | 149 | 250 |
| Butilato | - | Proibido | 149 | 250 |

Tab. 30: Percentagem de recuperação (% Rec), desvio padrão (s) coeficiente de variação (% CV) e número de ensaios efectuados (n) com os solventes de extracção: acetonitrilo, hexano-acetona (1:1, v/v) e diclorometano-metanol (9:1, v/v), nas temperaturas de 60, 70 e 80 °C na matriz do tomate para o nível de contaminação I.

| Pesticidas | Solvente de extracção: Acetonitrilo | | | | | | | | | | | |
|--------------|---|------|------|---|--------------|------|------|---|--------------|------|------|---|
| | 1ª Extracção | | | | 2ª Extracção | | | | 3ª Extracção | | | |
| | 60 °C | | | | 70 °C | | | | 80 °C | | | |
| | %Rec | s | %CV | n | %Rec | s | %CV | n | %Rec | s | %CV | n |
| Carbofurão | 65,80 | 2,77 | 4,20 | 4 | 68,84 | 3,50 | 5,09 | 4 | 36,48 | 2,23 | 6,12 | 4 |
| Carbaril | 102,4 | 5,73 | 5,59 | 3 | 98,22 | 3,61 | 3,67 | 3 | 103,5 | 4,89 | 4,72 | 3 |
| Etiofencarbe | 95,75 | 1,71 | 1,78 | 4 | 72,78 | 3,90 | 5,36 | 4 | 67,92 | 2,84 | 4,19 | 3 |
| Monolinurão | 77,42 | 2,15 | 2,78 | 3 | 83,08 | 2,80 | 3,37 | 3 | 71,50 | 2,78 | 3,88 | 4 |
| Metobromurão | 71,53 | 3,19 | 4,46 | 3 | 56,63 | 3,50 | 6,18 | 4 | 47,86 | 1,25 | 2,62 | 4 |
| Linurão | 74,40 | 1,85 | 2,48 | 3 | 84,07 | 3,86 | 4,60 | 4 | 75,69 | 2,58 | 3,41 | 4 |
| Clorprofame | 82,42 | 4,09 | 4,97 | 3 | 73,41 | 50,7 | 69,0 | 4 | 88,63 | 5,16 | 5,82 | 4 |
| EPTC | 57,64 | 4,03 | 7,00 | 3 | 73,25 | 21,0 | 28,6 | 4 | 58,41 | 1,78 | 3,05 | 4 |
| Butilato | 76,31 | 2,84 | 3,72 | 3 | 40,81 | 6,03 | 14,8 | 4 | 9,59 | 2,10 | 21,9 | 4 |
| | | | | | | | | | | | | |
| | Solvente de extracção: Hexano-acetona (1:1, v/v) | | | | | | | | | | | |
| | 60 °C | | | | 70 °C | | | | 80 °C | | | |
| | %Rec | s | %CV | n | %Rec | s | %CV | n | %Rec | s | %CV | n |
| Carbofurão | 66,01 | 4,23 | 6,40 | 3 | 92,19 | 14,3 | 15,5 | 3 | 104,7 | 39,4 | 37,6 | 3 |
| Carbaril | 80,33 | 6,35 | 7,91 | 3 | 81,57 | 9,99 | 12,3 | 3 | 49,37 | 2,73 | 2,28 | 4 |
| Etiofencarbe | 102,8 | 7,46 | 7,26 | 3 | 102,8 | 8,38 | 8,15 | 3 | 49,44 | 5,29 | 5,28 | 4 |
| Monolinurão | 93,59 | 7,64 | 8,17 | 3 | 99,81 | 1,91 | 1,92 | 3 | 41,80 | 2,54 | 6,08 | 3 |
| Metobromurão | 103,7 | 12,6 | 12,1 | 3 | 80,29 | 5,69 | 7,08 | 3 | 33,70 | 1,95 | 5,79 | 3 |
| Linurão | 86,68 | 7,06 | 8,14 | 3 | 76,42 | 6,24 | 8,17 | 3 | 50,93 | 3,27 | 6,43 | 4 |
| Clorprofame | 73,26 | 5,70 | 7,78 | 3 | 128,4 | 17,9 | 13,9 | 3 | 46,28 | 10,7 | 23,1 | 3 |
| EPTC | 22,38 | 5,10 | 22,8 | 3 | 31,63 | 9,97 | 31,5 | 3 | 42,24 | 12,0 | 28,5 | 3 |
| Butilato | 22,62 | 3,27 | 14,5 | 3 | 41,21 | 10,0 | 24,3 | 3 | 41,22 | 8,79 | 21,3 | 3 |
| | | | | | | | | | | | | |
| | Solvente de extracção: Diclorometano-metanol (9:1, v/v) | | | | | | | | | | | |
| | 60 °C | | | | 70 °C | | | | 80 °C | | | |
| | %Rec | s | %CV | n | %Rec | s | %CV | n | %Rec | s | %CV | n |
| Carbofurão | 23,46 | 6,26 | 26,7 | 3 | 113,1 | 15,3 | 13,5 | 3 | 100,6 | 22,5 | 22,4 | 3 |
| Carbaril | 103,6 | 13,4 | 12,9 | 3 | 75,49 | 4,06 | 5,38 | 3 | 102,5 | 4,15 | 4,11 | 4 |
| Etiofencarbe | 82,51 | 27,1 | 32,9 | 3 | n.d. | | | 4 | 64,84 | 11,0 | 7,74 | 2 |
| Monolinurão | 82,53 | 7,42 | 9,00 | 3 | 79,07 | 14,2 | 18,0 | 3 | 82,00 | 12,5 | 15,2 | 3 |
| Metobromurão | 66,28 | 2,88 | 4,35 | 3 | 74,89 | 2,03 | 2,71 | 3 | 72,31 | 7,89 | 10,9 | 3 |
| Linurão | 83,89 | 5,53 | 6,59 | 3 | 20,36 | 16,4 | 80,7 | 4 | n.d. | | | 4 |
| Clorprofame | 131,5 | 25,1 | 19,1 | 3 | 17,46 | 1,82 | 10,4 | 3 | n.d. | | | 4 |
| EPTC | n.d. | | | 4 | 44,49 | 42,1 | 94,6 | 4 | n.d. | | | 4 |
| Butilato | n.d. | | | 4 | 11,87 | 3,97 | 33,5 | 3 | n.d. | | | 4 |

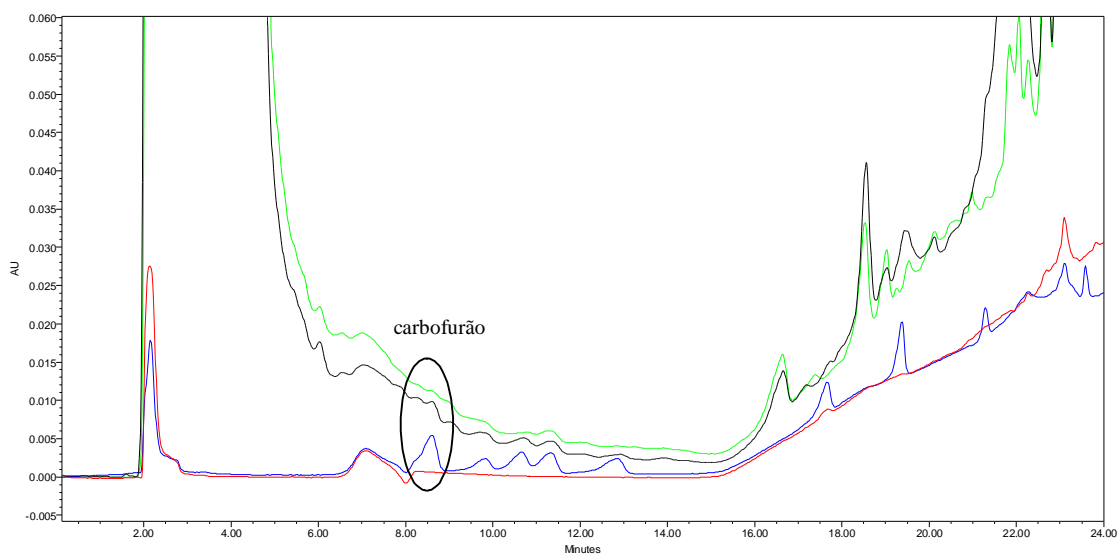
n.d.- não detectado

De acordo com os resultados da percentagem de recuperação expressos na tab. 30, no nível de concentração estudado, concluiu-se que:

- o solvente de extracção diclorometano-metanol (9:1, v/v) não permite a extracção dos pesticidas EPTC e butilato a 60 °C, do pesticida etiofencarbe a 70 °C e dos pesticidas linurão, clorprofame, EPTC e butilato a 80 °C na matriz do tomate. O pesticida carbofurão apresenta um valor de percentagem de recuperação muito baixo ($23,46 \pm 6,26 \%$) a 60 °C;
- ao utilizar como solventes de extracção o acetonitrilo e a mistura hexano-acetona (1:1, v/v) em toda a gama de temperaturas estudadas, permite a detecção de todos os pesticidas das duas famílias, na matriz do tomate.
- obtém-se melhores resultados da percentagem de recuperação para os pesticidas EPTC e butilato ao utilizar como solvente de extracção o acetonitrilo nas temperaturas de 60 e 70 °C;
- ao utilizar o acetonitrilo à temperatura de extracção de 60 °C permite a obtenção de valores de percentagem de recuperação entre $57,64 \pm 4,03 \%$ (EPTC) a $102,4 \pm 5,73 \%$ (carbaril). Utilizando o acetonitrilo à temperatura de extracção de 70 °C permite a obtenção de valores de percentagem de recuperação entre $40,81 \pm 6,03 \%$ (butilato) a $98,22 \pm 3,61\%$ (carbaril).
- ao analisar os resultados obtidos ao utilizar como solvente de extracção o acetonitrilo ou o hexano-acetona (1:1, v/v) verifica-se que de um modo geral os coeficientes de variação são mais elevados no caso do hexano-acetona (1:1, v/v);
- ao comparar os resultados obtidos utilizando o acetonitrilo nas temperaturas de 60 e 70 °C, verifica-se que nos pesticidas clorprofame, EPTC e butilato os coeficientes de variação são muito elevados.

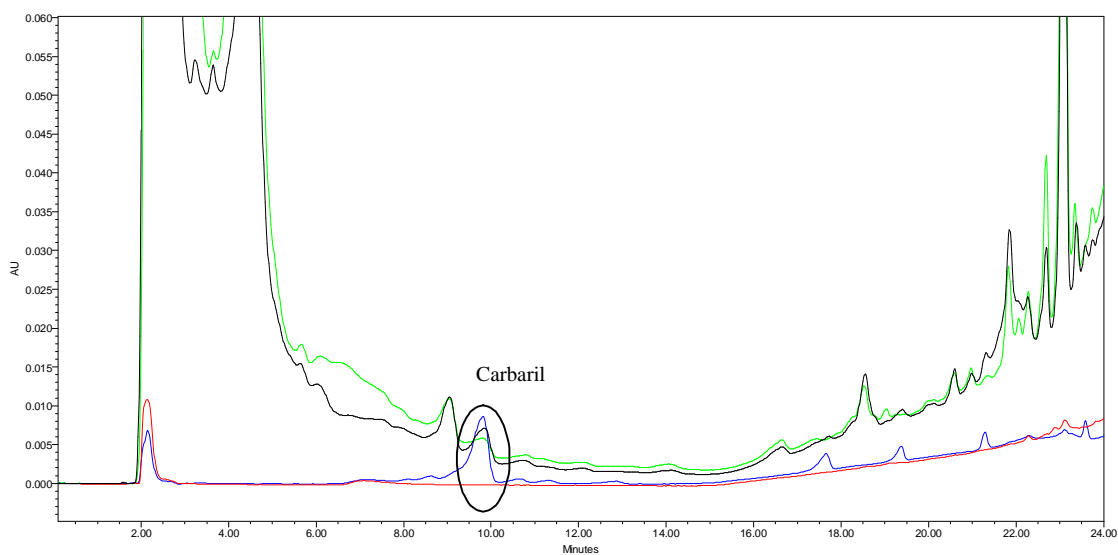
O solvente de extracção e a temperatura de extracção mais adequados na extracção dos nove pesticidas na matriz do tomate são o acetonitrilo a 60 °C.

Utilizando o solvente de extracção e a temperatura de extracção mais adequados obtidos nos ensaios efectuados na matriz do tomate (acetonitrilo a 60 °C), ilustra-se na fig. 59 à 63, na absorção máxima para cada pesticida, a sobreposição de cromatogramas: solução padrão misto de concentração 250 µg/L em cada pesticida, tomate contaminado com diferentes concentrações de cada pesticida (nível I), acetonitrilo (branco do solvente) e tomate não contaminado (branco da matriz).



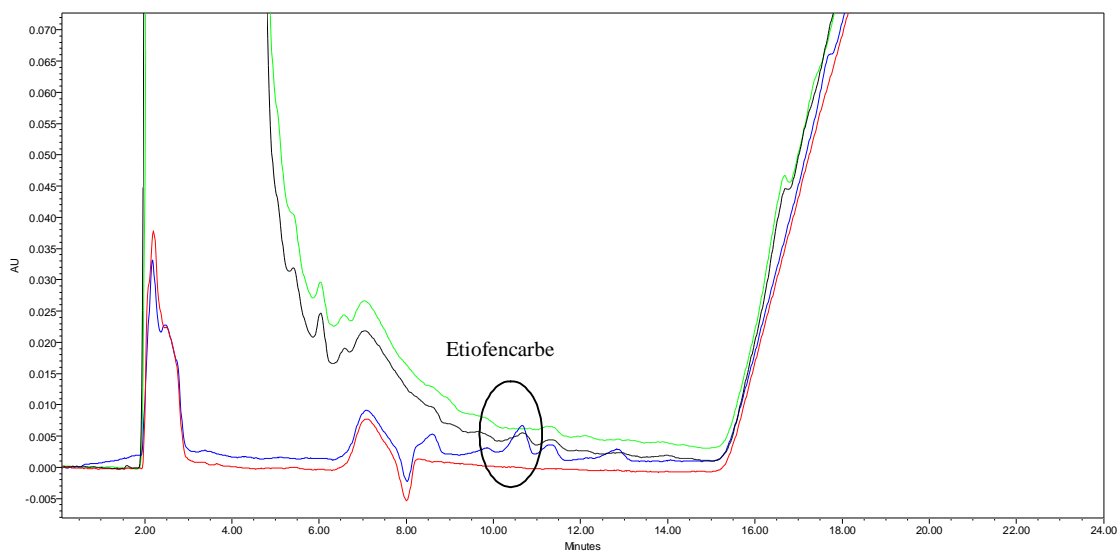
Legenda: ■ solução padrão misto em acetonitrilo (concentração 250 µg/L em todos os pesticidas), ■ tomate contaminado com 60 µg/kg de carbofurão, ■ acetonitrilo (branco do solvente) e ■ tomate não contaminado (branco da matriz).

Fig. 59: Sobreposição dos cromatogramas a 199,2 nm (carbofurão) na matriz do tomate.



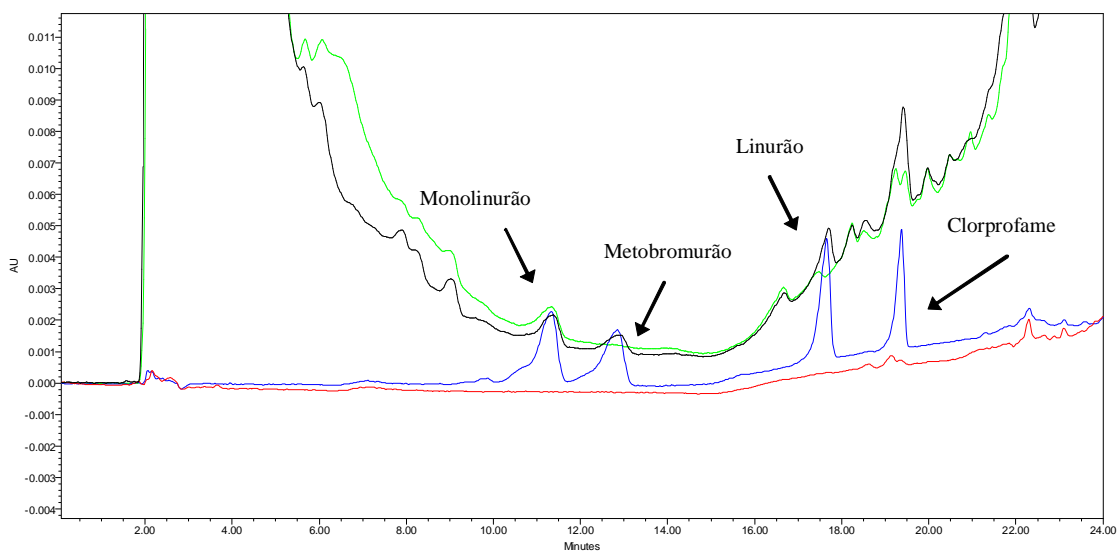
Legenda: ■ solução padrão misto em acetonitrilo (concentração 250 µg/L em todos os pesticidas), ■ tomate contaminado com 48 µg/kg de carbaril, ■ acetonitrilo (branco do solvente) e ■ tomate não contaminado (branco da matriz).

Fig. 60: Sobreposição dos cromatogramas a 221,4 nm (carbaril) na matriz do tomate.



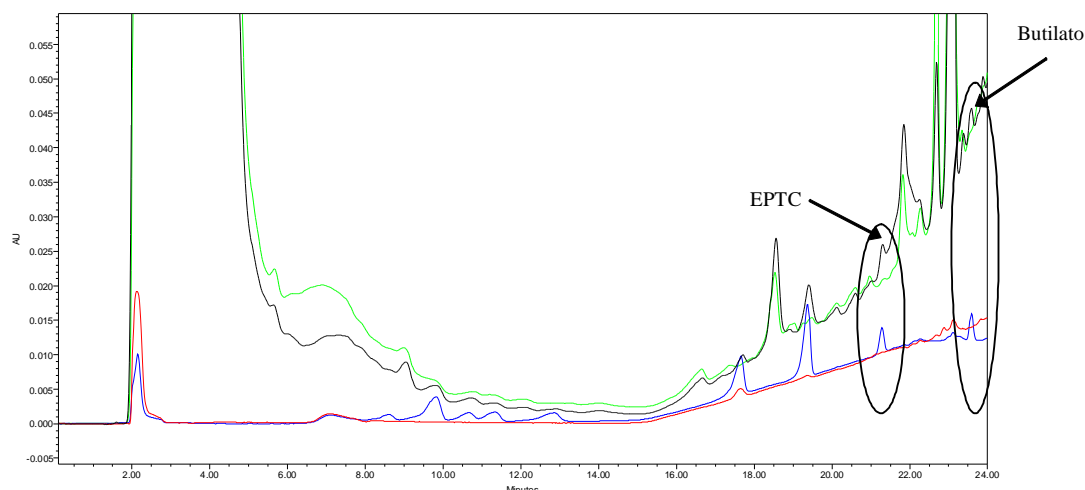
Legenda: ■ solução padrão misto em acetonitrilo (concentração 250 µg/L em todos os pesticidas), ■ tomate contaminado com 60 µg/kg de etiofencarbe, ■ acetonitrilo (branco do solvente) e ■ tomate não contaminado (branco da matriz).

Fig. 61: Sobreposição dos cromatogramas a 192,2 nm (etiofencarbe) na matriz do tomate.



Legenda: ■ solução padrão misto em acetonitrilo (concentração 250 µg/L em todos os pesticidas), ■ tomate contaminado com 60 µg/kg nos pesticidas monolinurão, metobromurão, linurão e clorprofame, ■ acetonitrilo (branco do solvente) e ■ tomate não contaminado (branco da matriz).

Fig. 62: Sobreposição dos cromatogramas a 245,0 nm (monolinurão, metobromurão, linurão e clorprofame) na matriz do tomate.



Legenda: ■ solução padrão misto em acetonitrilo (concentração 250 µg/L em todos os pesticidas), ■ tomate contaminado com 149 µg/kg nos pesticidas EPTC e butilato, ■ acetonitrilo (branco do solvente) e ■ tomate não contaminado (branco da matriz).

Fig. 63: Sobreposição dos cromatogramas a 210,0 nm (EPTC e butilato) na matriz do tomate.

Após a determinação da temperatura e do solvente de extracção mais adequados, contaminou-se a matriz do tomate com diferentes níveis de contaminação. Os níveis de contaminação II e III foram escolhidos de acordo com o limite de detecção do método desenvolvido (HPLC-DAD) para cada pesticida e o respectivo valor de LMR da legislação em Portugal.

Os pesticidas etiofencarbe, monolinurão, metobromurão e butilato são proibidos, por isso o nível de contaminação II e III, foram efectuados com concentrações inferiores à contaminação efectuada no nível I.

Para o pesticida carbaril e clorprofame, os LMR são de 1000 µg/kg (tomate) e 5000 µg/kg (batata), respectivamente. Como estes níveis são muito elevados, a contaminação efectuada foi abaixo do LMR para cada pesticida.

Para o pesticida carbofurão, o LMR é de 100 µg/kg (tomate), o primeiro nível de contaminação efectuada foi abaixo do LMR (60,0 µg/kg), por isso os níveis de contaminação II e III escolhidos foram 100 µg/kg (no LMR) e 200 µg/kg (acima do LMR).

A formulação que contém a substância activa linurão não é aplicada no tomate e o respectivo LMR varia entre 50,0-200 µg/kg. Como foi efectuada a contaminação no nível I dentro do limite LMR (60,0 µg/kg). No nível II será efectuada a contaminação no extremo

inferior do LMR (50,0 µg/kg) e no nível III no extremo superior do intervalo de LMR (200 µg/kg).

Na tab. 31 apresentam-se os níveis de contaminação II e III efectuados na matriz do tomate.

Tab. 31: Limite máximo de resíduo (LMR), aplicação da substância activa e contaminação efectuada na matriz do tomate para cada pesticida.

| Pesticidas | LMR | Nível II | | Nível III | |
|---------------------|---------|------------------------|---|------------------------|---|
| | | Contaminação | Concentração em solução após pré-concentração | Contaminação | Concentração em solução após pré-concentração |
| | (µg/kg) | µg_pesticida/kg_tomate | µg/L | µg_pesticida/kg_tomate | µg/L |
| Carbofurão | 100 | 100 | 167 | 200 | 334 |
| Carbaril | 1000 | 100 | 167 | 200 | 334 |
| Etiofencarbe | - | 30,0 | 50,0 | 10,0 | 16,7 |
| Monolinurão | - | 50,0 | 83,5 | 20,0 | 34,0 |
| Metobromurão | - | 50,0 | 83,5 | 20,0 | 34,0 |
| Linurão | 50-200 | 50,0 | 83,5 | 200 | 334 |
| Clorprofame | 5000 | 100 | 167 | 200 | 334 |
| EPTC | 50 | 50,0 | 83,5 | 30,0 | 50,0 |
| Butilato | - | 75,0 | 125 | 50,0 | 84,0 |

Os resultados obtidos de percentagem de recuperação para os dois níveis de contaminação encontram-se na tabela seguinte (tab. 32).

Tab. 32: Percentagem de recuperação (% Rec), desvio padrão (s), coeficiente de variação (% CV) e número de ensaios efectuados (n) para o acetonitrilo a 60 °C nos níveis de contaminação II e III na matriz do tomate.

| Pesticidas | Nível II | | | | Nível III | | | |
|---------------------|----------|------|------|---|-----------|------|------|---|
| | %Rec | s | %CV | n | %Rec | s | %CV | n |
| Carbofurão | 68,84 | 5,25 | 7,63 | 6 | 26,10 | 1,97 | 7,55 | 6 |
| Carbaril | 100,0 | 5,35 | 5,35 | 6 | 106,5 | 8,44 | 7,93 | 6 |
| Etiofencarbe | 103,2 | 10,0 | 9,72 | 6 | 81,87 | 4,15 | 5,07 | 6 |
| Monolinurão | 78,83 | 7,78 | 9,86 | 6 | 95,54 | 7,98 | 8,36 | 6 |
| Metobromurão | 73,68 | 7,78 | 7,69 | 6 | 63,95 | 4,17 | 6,51 | 6 |
| Linurão | 77,42 | 5,83 | 7,54 | 6 | 82,99 | 6,70 | 8,07 | 6 |
| Clorprofame | 66,57 | 6,59 | 9,90 | 6 | 63,56 | 4,85 | 7,63 | 6 |
| EPTC | 66,02 | 5,03 | 7,61 | 4 | 26,18 | 9,83 | 37,5 | 6 |
| Butilato | 94,21 | 4,71 | 5,00 | 6 | 54,62 | 6,75 | 12,4 | 6 |

Para compararmos os três níveis de contaminação efectuados no tomate, na tab. 33, encontram-se todos os resultados da percentagem de recuperação para todos os níveis de contaminação (nível I, nível II e nível III) com os pesticidas em estudo na matriz do tomate.

Tab. 33: Percentagem de recuperação (% Rec) para cada nível de contaminação para todos os pesticidas em estudo na matriz do tomate.

| Composto | $\mu\text{g}_{\text{pesticida}}/\text{kg}_{\text{tomate}}$ | | | | | | | | | |
|--------------|--|--------------------|--------------------|--------------------|--------------------|--------------------|--------------------|--------------------|--------------------|--------------------|
| | 10,0 | 20,0 | 30,0 | 48,0 | 50,0 | 60,0 | 75,0 | 100 | 149 | 200 |
| | % Rec (% CV; n) | | | | | | | | | |
| Carbofurão | | | | | | 65,80 (4,20; 4) | | 68,84 (7,63; 6) | | 26,10 (7,55; 6) |
| Carbaril | | | | 102,4 (5,59; 3) | | | | 100,0 (5,35; 6) | | 106,5 (7,93; 6) |
| Etiofencarbe | 81,87 (5,07; 6) | | 103,2 (9,72; 6) | | | 95,75 (1,78; 4) | | | | |
| Monolinurão | | 95,54 (8,36; 6) | | | 78,83 (9,86; 6) | 77,42 (2,78; 3) | | | | |
| Metobromurão | | 63,95 (6,51; 6) | | | 73,68 (7,69; 6) | 71,53 (4,46; 3) | | | | |
| Linurão | | | | | 77,42 (7,50; 6) | 74,40 (2,48; 3) | | | | 82,99 (8,07; 6) |
| Clorprofame | | | | | | 82,42 (4,97; 3) | | 66,57 (9,90; 6) | | 63,56 (7,63; 6) |
| EPTC | | | 26,18 (37,5; 6) | | 66,02 (7,61; 4) | | | | 57,64 (7,00; 3) | |
| Butilato | | | | | 54,62 (12,3; 6) | | 94,21 (5,00; 6) | | 76,31 (3,72; 3) | |

A partir dos resultados obtidos, expressos na tab. 33, concluiu-se:

- para o pesticida carbofurão, a percentagem de recuperação manteve-se constante no nível de contaminação 60,0 e 100 $\mu\text{g}/\text{kg}$ mas diminuiu bruscamente para o nível de contaminação superior (200 $\mu\text{g}/\text{kg}$).
- para os pesticidas carbaril e linurão, as percentagens de recuperação mantiveram-se constante em todas as contaminações efectuadas;
- o valor da percentagem de recuperação no nível inferior de contaminação para os pesticidas etiofencarbe, metobromurão, EPTC e butilato é o mais baixo. Para o EPTC e butilato, verificam-se que os coeficientes de variação CV são mais elevados para baixas concentrações de pesticida.
- No caso dos pesticidas monolinurão e clorprofame no nível inferior de contaminação obtém-se valores de percentagem de recuperação maiores.

3.4.5. Optimização das condições de extracção nas matrizes de vegetais (batata, cebola, cenoura e repolho)

Após o desenvolvimento do método de extracção por MAE e análise cromatográfica por HPLC-DAD, para a quantificação dos pesticidas (butilato, carbaril, carbofurão, clorprofame, EPTC, etiofencarbe, e linurão) nas matrizes de solos (tipo I e tipo II) e tomate, o nosso estudo foi alargado à extracção dos pesticidas nos seguintes vegetais: batata, cenoura, cebola e repolho. A contaminação dos vegetais foi efectuada com uma solução padrão misto de concentração variável em cada pesticida (tab. 34) e foram testados três solventes a 60 °C. Nas tab. 35 e 36, encontram-se os resultados obtidos das percentagens de recuperação das extracções efectuadas com os solventes de extracção seleccionados (acetonitrilo, hexano-acetona (1:1, v/v) e diclorometano-metanol (9:1, v/v)) nas diversas matrizes. Apresentam-se no anexo XIV (Pág. 269 à 270), todos os resultados obtidos da percentagem de recuperação para cada vegetal.

Tab. 34: Limite máximo de resíduo (LMR), aplicação e nível de contaminação efectuado nas matrizes dos vegetais para cada pesticida.

| Pesticidas | LMR (µg/kg) | Aplicação da substância activa | Contaminação dos vegetais para a optimização das condições de extracção assistida por microondas | |
|--------------|----------------|-----------------------------------|---|--|
| | | | Contaminação (µgpesticida/kgvegetal) | Vegetais em estudo |
| Carbofurão | 100 | Tomate | 60,0 | Batata Cenoura Cebola Repolho |
| | 300 | Cebola | | |
| | 300 | Cenoura | | |
| | 200 | Couve de Inflorescência | | |
| Carbaril | 1000 | Tomate | 48,0 | |
| | 3000 | Couve de cabeça | | |
| | 3000 | Couve de folha | | |
| | 3000 | Couve de Influrescência | | |
| | 100 | Batata | | |
| Etiofencarbe | Proibido | | 60,0 | |
| Linurão | 50 | Batata | 60,0 | |
| | 200 | Cebola | | |
| | 200 | Cenoura | | |
| Clorprofame | 5000 | Batata | 60,0 | |
| EPTC | 50 | Batata | 159 | |
| Butilato | Proibido | | 159 | |

Tab. 35: Percentagem de recuperação (% Rec), desvio padrão (s), coeficiente de variação (% CV) e número de ensaios efectuados (n) utilizando: o acetonitrilo, as misturas: hexano-acetona (1:1, v/v) e diclorometano-metanol (9:1, v/v) para extrair a 60 °C os pesticidas em estudo da batata com um nível de contaminação para carbofurão, etiofencarbe, linurão e clorprofame de 60,0 µg/kg, para o carbaril de 48,0 µg/kg e para os pesticidas EPTC e butilato de 159 µg/kg.

| Pesticidas | n | Acetonitrilo | | | Hexano-acetona (1:1, v/v) | | | Diclorometano-metanol (9:1, v/v) | | |
|--------------|---|--------------|------|------|---------------------------|------|------|----------------------------------|------|------|
| | | %Rec | s | % CV | %Rec | s | % CV | %Rec | s | % CV |
| Carbofurão | 4 | n.d. | | | n.d. | | | n.d. | | |
| Carbaril | 4 | 88,33 | 6,09 | 6,90 | 89,69 | 3,76 | 4,19 | 64,21 | 2,24 | 3,49 |
| Etiofencarbe | 4 | 21,14 | 4,93 | 23,3 | n.d. | | | n.d. | | |
| Linurão | 4 | 87,32 | 2,93 | 3,36 | 86,22 | 3,72 | 4,32 | 58,46 | 5,47 | 9,37 |
| Clorprofame | 4 | 67,91 | 1,63 | 2,39 | 71,95 | 1,96 | 2,73 | 55,73 | 3,15 | 5,66 |
| EPTC | 4 | n.d. | | | n.d. | | | n.d. | | |
| Butilato | 4 | n.d. | | | n.d. | | | n.d. | | |

n.d.- não detectado

De acordo com os resultados de percentagem de recuperação obtidos para os níveis usados e expressos na tab. 35, verifica-se que os pesticidas: carbofurão, EPTC e butilato não são detectados por nenhum solvente de extracção utilizado neste estudo (acetonitrilo, hexano-acetona (1:1, v/v) e diclorometano-metanol (9:1, v/v)).

Os valores mais elevados de percentagem de recuperação são obtidos com o solvente de extracção acetonitrilo que permite a detecção de quatro dos sete pesticidas que contaminaram a batata: o carbaril, o etiofencarbe, o linurão e o clorprofame, obtém-se valores entre 21,14±4,93 % (etiofencarbe) a 88,33±6,09 % (carbaril). Para o pesticida etiofencarbe obteve-se baixo valor de percentagem de recuperação associado a um elevado valor de coeficiente de variação.

Os valores mais baixos de percentagem de recuperação para os pesticidas carbaril, linurão e clorprofame foram obtidos ao utilizar o solvente de extracção diclorometano-metanol (9:1, v/v).

Concluiu-se que para a matriz da batata a 60 °C, o solvente óptimo de extracção será o acetonitrilo.

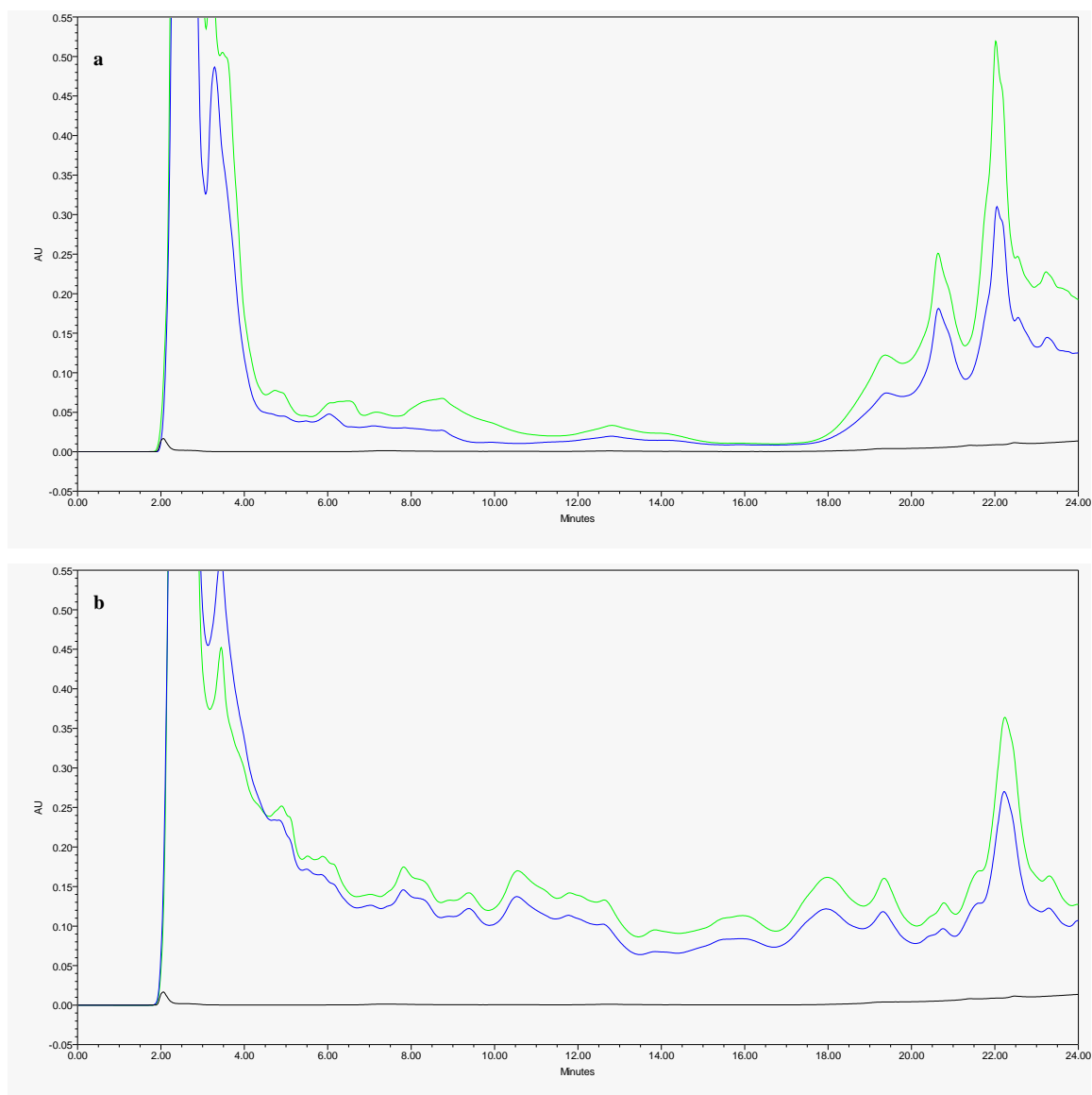
Tab. 36: Percentagem de recuperação (% Rec), desvio padrão (s), coeficiente de variação (% CV) e número de ensaios efectuados (n) utilizando: o acetonitrilo, as misturas hexano-acetona (1:1, v/v) e diclorometano-metanol (9:1, v/v) para extrair a 60 °C os pesticidas em estudo do repolho com um nível de contaminação para os pesticidas carbofurão, etiofencarbe, linurão e clorprofame de 60,0 µg/kg, para o pesticida carbaril de 48,0 µg/kg e para os pesticidas EPTC e butilato de 159 µg/kg.

| Pesticidas | n | Acetonitrilo | | | Hexano-acetona (1:1, v/v) | | | Diclorometano-metanol (9:1, v/v) | | |
|---------------------|---|--------------|------|-------|---------------------------|------|-------|----------------------------------|------|-------|
| | | %Rec | s | %CV | %Rec | s | %CV | %Rec | s | % CV |
| Carbofurão | 4 | n.d. | | | n.d. | | | 9,55 | 1,55 | 16,90 |
| Carbaril | 4 | 66,42 | 0,59 | 0,89 | 68,47 | 1,83 | 2,67 | 70,92 | 0,74 | 1,05 |
| Etiofencarbe | 4 | 25,34 | 9,25 | 36,48 | 19,40 | 6,99 | 36,04 | n.d. | | |
| Linurão | 4 | 30,79 | 7,64 | 24,80 | 26,86 | 2,15 | 8,01 | 27,96 | 1,87 | 6,70 |
| Clorprofame | 4 | n.d. | | | n.d. | | | n.d. | | |
| EPTC | 4 | n.d. | | | n.d. | | | n.d. | | |
| Butilato | 4 | n.d. | | | n.d. | | | n.d. | | |

n.d.- não detectado

Utilizando como solventes de extracção o acetonitrilo e a mistura hexano-acetona (1:1, v/v) os pesticidas detectados foram: o carbaril, o etiofencarbe e o linurão. Ao utilizar como solvente de extracção o diclorometano-metanol (9:1, v/v), no nível de contaminação efectuada permitiu a detecção dos pesticidas: carbofurão, carbaril e linurão. Obtém-se baixos valores de percentagem de recuperação com todos os solventes testados para os pesticidas carbofurão, etiofencarbe e linurão associados a elevados valores de coeficientes de variação. Apenas o pesticida carbaril apresenta uma percentagem de recuperação mais elevada.

Nos vegetais cenoura e cebola, não foram detectados os pesticidas em estudo, com todos os solventes utilizados no processo de extracção por MAE. Como se pode verificar os cromatogramas da cenoura e da cebola na fig. 64, os picos que aparecem na matriz impossibilitam a detecção dos picos dos pesticidas presentes nas amostras contaminadas de cenoura e cebola.



Legenda: ■ solução padrão misto em acetonitrilo (concentração 200 µg/L em todos os pesticidas), ■ branco da matriz e ■ matriz contaminada com uma solução de padrão misto com um nível de contaminação para os pesticidas carbofurão, etiofencarbe, linurão e clorprofame de 60,0 µg/kg, para o pesticida carbaril de 48,0 µg/kg e para os pesticidas EPTC e butilato de 159 µg/kg.

Fig. 64: Sobreposição dos cromatogramas a 210,0 nm de: **a)** cenoura e **b)** cebola.

Nos vegetais seleccionados, nomeadamente, a batata, a cebola, a cenoura e o repolho, a detecção efectuada por HPLC-DAD é dificultada pelos picos da própria matriz; as áreas obtidas

dos picos interferentes são elevadas e sobrepõem-se aos picos dos pesticidas. Para resolver este problema, efectuou-se uma pesquisa bibliográfica, estudando os artigos publicados referentes à extracção de pesticidas em vegetais e frutos e tentou-se adaptar/optimizar (numa primeira fase em ampola de decantação) a metodologia sugerida por Ni Y. *et al*^[233].

O procedimento testado baseia-se em duas etapas e teve como objectivo remover os corantes e as impurezas presentes quer na matriz do tomate, ficando assim com um cromatograma mais límpido, quer nas matrizes de vegetais como a batata, a cenoura, a cebola e o repolho, de modo a permitir a detecção de todos os pesticidas em estudo. Contaminou-se o repolho com uma solução de padrão misto com concentração de 500 µg/L em cada pesticida e procedeu-se à primeira etapa. Adiciona-se na ampola de decantação à matriz vegetal 20 mL de diclorometano. Após a agitação durante 10 minutos, a amostra foi deixada em repouso durante algum tempo, obtendo-se no final duas fases (fig. 65). A coloração das fases representada na fig. 65 foi a obtida no ensaio efectuado no laboratório com a matriz de repolho. A 2ª fase apresenta a coloração característica da matriz da qual se está a extrair os pesticidas.

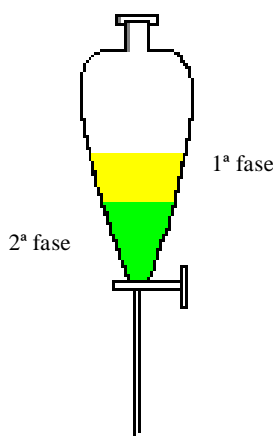


Fig. 65: Primeira etapa do processo de extracção descrito por Ni Y. *et al*, da matriz repolho contaminado com pesticidas.

Na segunda etapa adicionou-se à 1ª fase da primeira etapa 60 mL de uma mistura de hexano-acetonitrilo (1:1, v/v). Após agitação a mistura foi deixada em repouso durante algum tempo. Verificou-se a formação de duas fases com colorações muito semelhantes (fig. 66). A 3ª fase apresentava uma coloração de amarelo intenso resultante das impurezas e corantes presentes no repolho (fase do hexano), e a 4ª fase uma coloração de amarelo pálido (fase do acetonitrilo) que deveria conter os pesticidas.

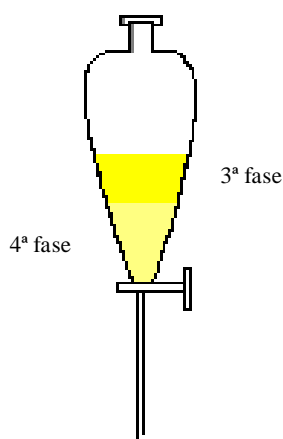


Fig. 66: Segunda etapa do processo de extracção descrito por Ni Y. *et al*, da matriz repolho contaminado com pesticidas.

No final da extracção evaporou-se a 2ª fase, a 3ª e a 4ª fase e redissolveu-se cada resíduo com acetonitrilo. Após a injeção de todos os extractos de cada fase no HPLC-DAD e analisando os cromatogramas verificou-se que nenhum dos pesticidas tinha sido extraído em concentração suficiente para ser detectado.

Como trabalho futuro, dever-se-ia continuar com as experiências, modificando alguns dos parâmetros utilizados. Se os resultados obtidos permitissem a detecção dos pesticidas em estudo com valores de percentagem de recuperação elevados, poder-se-ia optar por efectuar a extracção por MAE dos pesticidas nas matrizes de vegetais e frutos seguida do procedimento descrito por Ni Y. *et al* como uma etapa de redução/eliminação de interferentes das matrizes.

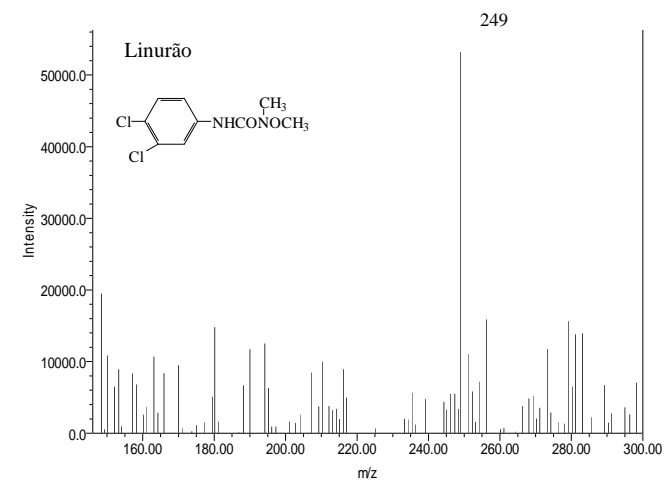
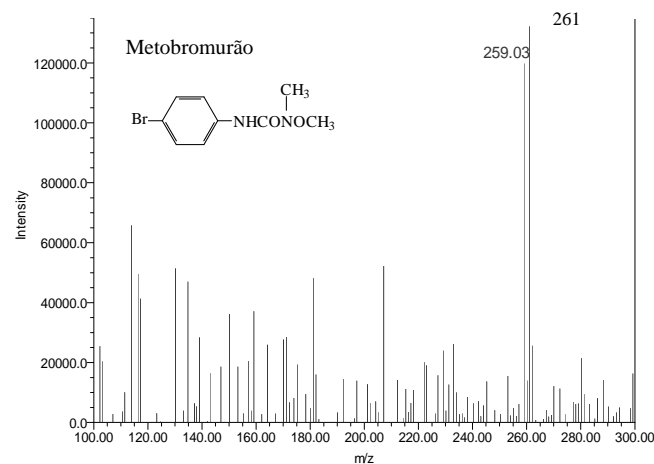
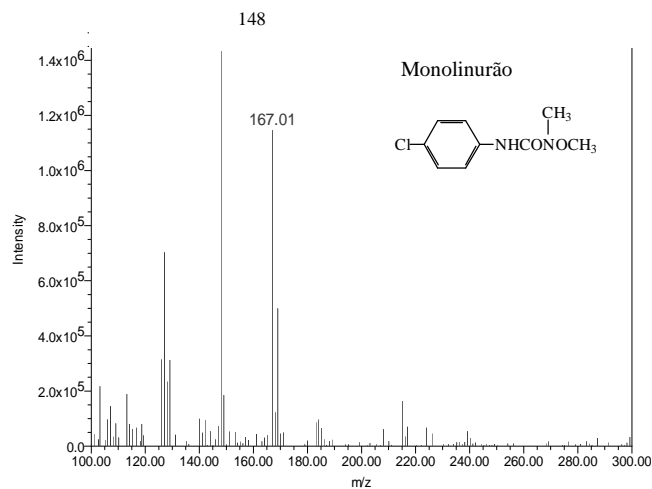
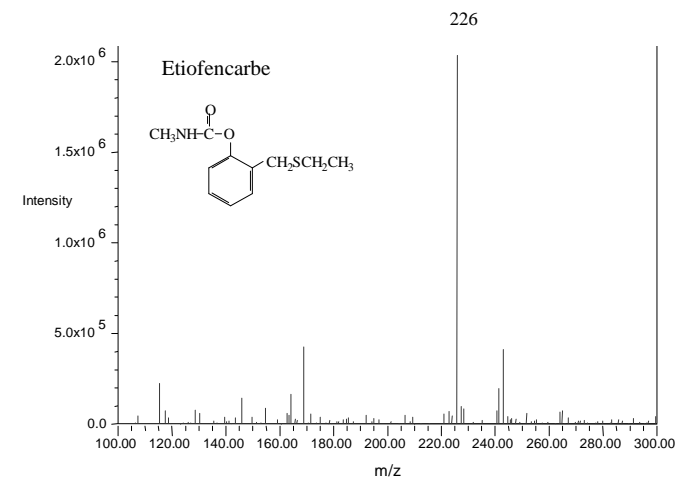
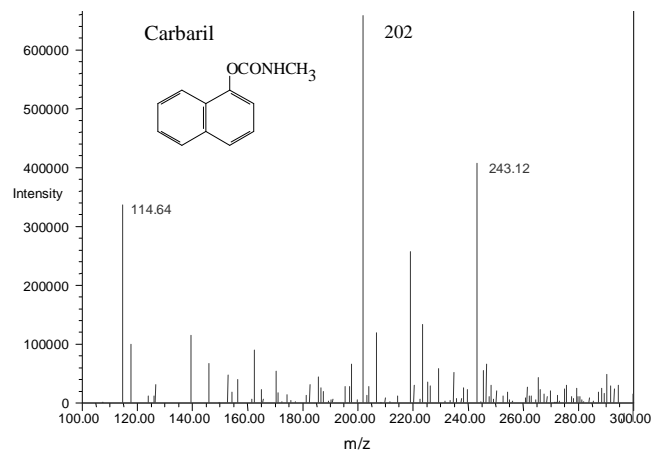
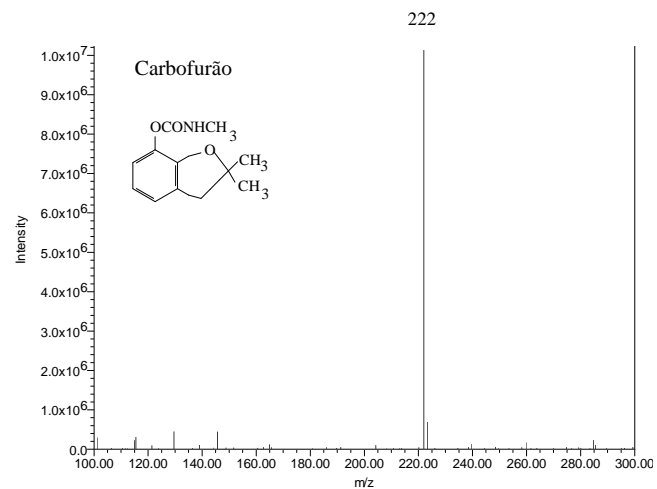
3.5. Desenvolvimento das condições cromatográficas para a detecção dos pesticidas em estudo por LC-MS

A espectrometria de massa (MS) é uma técnica de detecção que permite com um elevado grau de segurança determinar a identidade do analito. O progresso verificado nos últimos anos no que se refere à possibilidade de utilização de técnicas como a LC com detector MS veio permitir alargar o espectro de aplicação de MS a compostos mais polares e

normalmente termolábeis, incluindo a obtenção de informação estrutural sobre os produtos de degradação^[65].

Após a análise das amostras reais de tomate (fruto e transformado) por HPLC-DAD, efectuou-se a confirmação dos picos que apareceram em cada amostra pelos respectivos espectros de massa dos nove pesticidas. Procedeu-se primeiro à optimização e ao desenvolvimento cromatográfico para a detecção dos pesticidas em estudo por LC-MS. O programa de eluição aplicado encontra-se descrito na fig. 39, no capítulo de Material e Métodos, com um fluxo de 0,19 mL/min.

A caracterização por LC-MS apenas foi efectuada para o pesticida carbofurão tendo-se obtido o ião molecular 222 (cone de 15 V) e um ião de confirmação 165 (cone de 30 V). As optimizações por MS não foram efectuadas para os restantes pesticidas uma vez que o capilar que liga o *Reodhyme* à sonda do MS partiu-se. Os iões moleculares dos nove pesticidas foram encontrados através de uma pesquisa bibliográfica e estão referenciados na tab. 17 do capítulo 2 (Materiais e Métodos). Injectaram-se soluções padrão individuais de cada pesticida nas condições de MS referidas nas tab. 17 e 18 (subcapítulo de Materiais e Métodos) e aumentou-se o cone em cada injeção de modo a determinar o valor do cone óptimo para cada ião molecular. Na fig. 67 apresentam-se os espectros de massa obtidos por injeção directa de cada solução padrão dos pesticidas em estudo com a concentração de 500 µg/L.



continua

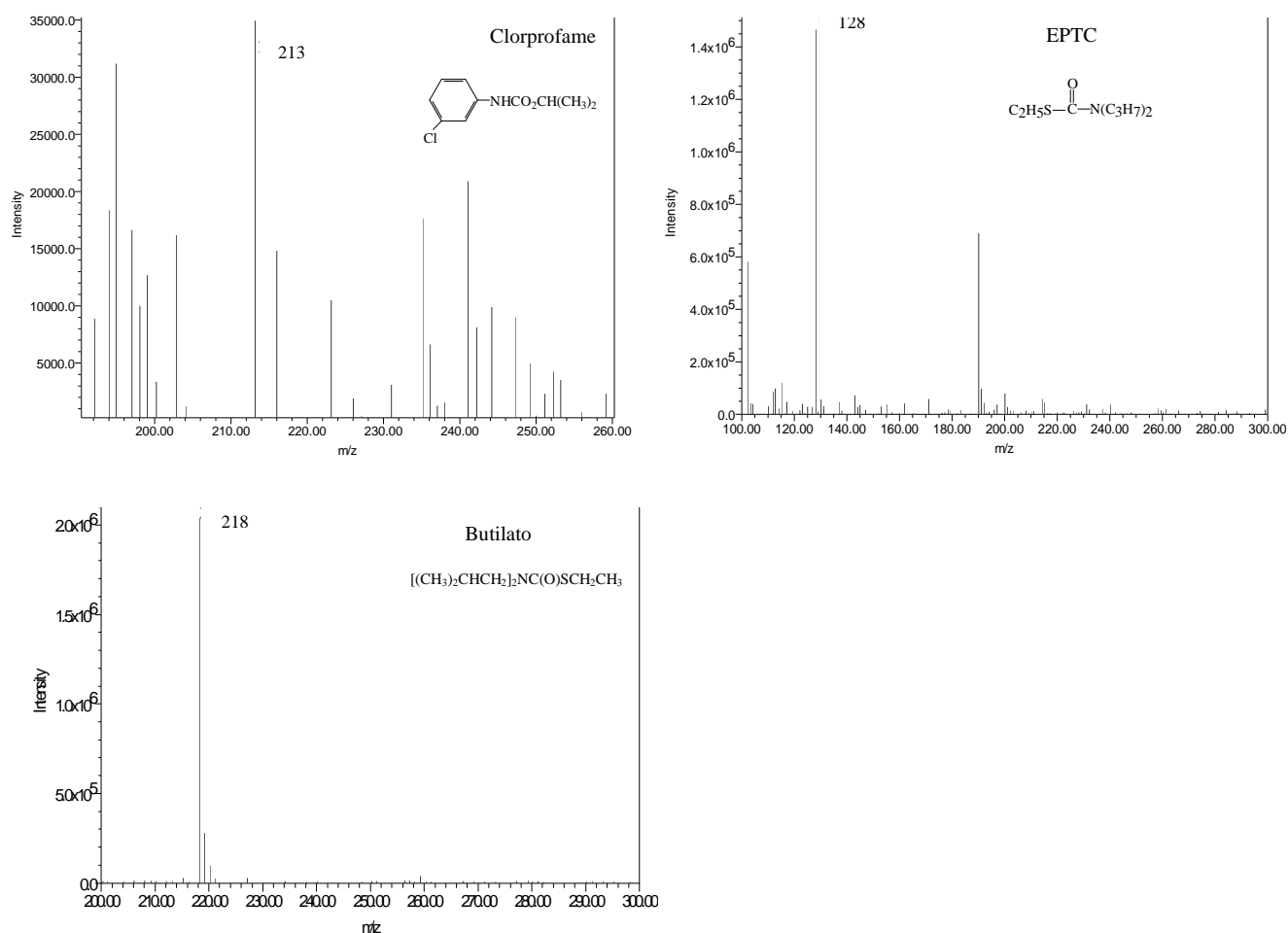
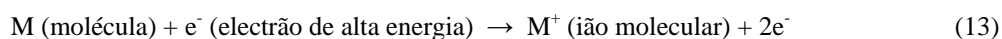


Fig. 67: Espectros de massa obtidos por injeção directa de cada solução padrão dos pesticidas: carbofurão, carbaril, etiofencarbe, monolinurão, metobromurão, linurão, clorprofame, EPTC e butilato com a concentração em cada pesticida de 500 µg/L.

Em abcissa está indicado a razão massa/carga (m/z) e em ordenada a abundância relativa, o espectro de massa indica a massa da molécula e a massa de partes dela^[267].

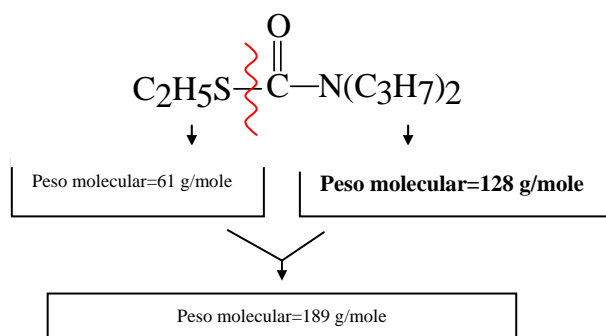
Um número estatístico de moléculas que não absorvem energia suficiente para fragmentar, perdem apenas um electrão, formando iões radicais positivos com a mesma massa nominal da molécula neutra. Estes iões são designados por iões moleculares (M^+) e contêm informação sobre o seu peso molecular^[267]:



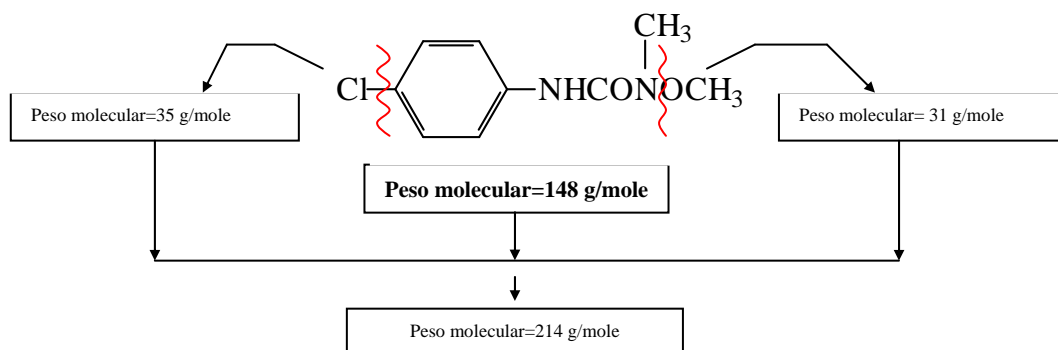
O pico do ião molecular corresponde exactamente ao peso molecular da molécula, no entanto nem sempre é possível identificá-la^[267]. No nosso estudo, os nove pesticidas foram

ionizados no modo positivo (ES^+) adicionando ao peso molecular o valor +1 para os pesticidas: carbofurão, carbaril, etiofencarbe, metobromurão, linurão e clorprofame. No entanto para os pesticidas EPTC e monolinurão, por MS não foram detectados nenhum pico nos respectivos pesos moleculares de 189 (EPTC) e 214 (monolinurão). Na bibliografia^[152, 256] referem a determinação destes dois pesticidas na razão m/z 128 e 148. No esquema seguinte ilustra-se a quebra e a parte da molécula que é detectada por MS para os pesticidas: EPTC e monolinurão.

EPTC



Monolinurão



Como se pode observar na fig. 67, nos espectros de massa aparecem vários picos, com intensidades diferentes. A grande maioria dos picos não são considerados na análise do espectro, pois correspondem a fragmentos que não se conseguem identificar. Deve-se considerar os picos de intensidade elevada, no qual o pico de maior intensidade frequentemente corresponde à própria molécula^[267].

3.6. Confirmação de interferentes na matriz do tomate por LC-MS

No subcapítulo 3.2 estudou-se a aplicabilidade da HPLC-DAD, para a análise de um conjunto de pesticidas, sendo possível, avaliar nove substâncias activas pertencentes a duas famílias de pesticidas (carbamatos e ureias). No capítulo 3.4, estudou-se a optimização dos parâmetros de extracção por MAE, para as matrizes de solos do tipo I e do tipo II e do tomate^T. A generalidade dos cromatogramas obtidos das amostras contaminadas não suscitou dúvidas de interpretação, no entanto ao analisar os cromatogramas do branco da matriz das diferentes variedades de tomate, de diferentes locais, reparou-se que aparecem na corrida cromatográfica picos com os mesmos tempos de retenção de alguns padrões de pesticidas injectados. Os índices de recuperação foram calculados, subtraindo ao pico obtido na matriz contaminada o pico do branco da matriz de tomate que aparece no mesmo tempo de retenção. Seguidamente, a confirmação por LC-MS dos picos que aparecem na matriz do tomate foi efectuada.

Na fig. 68, apresenta-se a 210,0 nm e 245,0 nm o cromatograma obtido por HPLC-DAD de uma injeção do branco da amostra de tomate TCoração de Boi-1-3-V.N.Gaia com a identificação dos picos interferentes nos mesmos tempos de retenção dos pesticidas em estudo.

^T O tomate TCoração de Boi-1-3-V.N.Gaia foi a amostra utilizada no processo de optimização dos parâmetros de extracção por MAE.

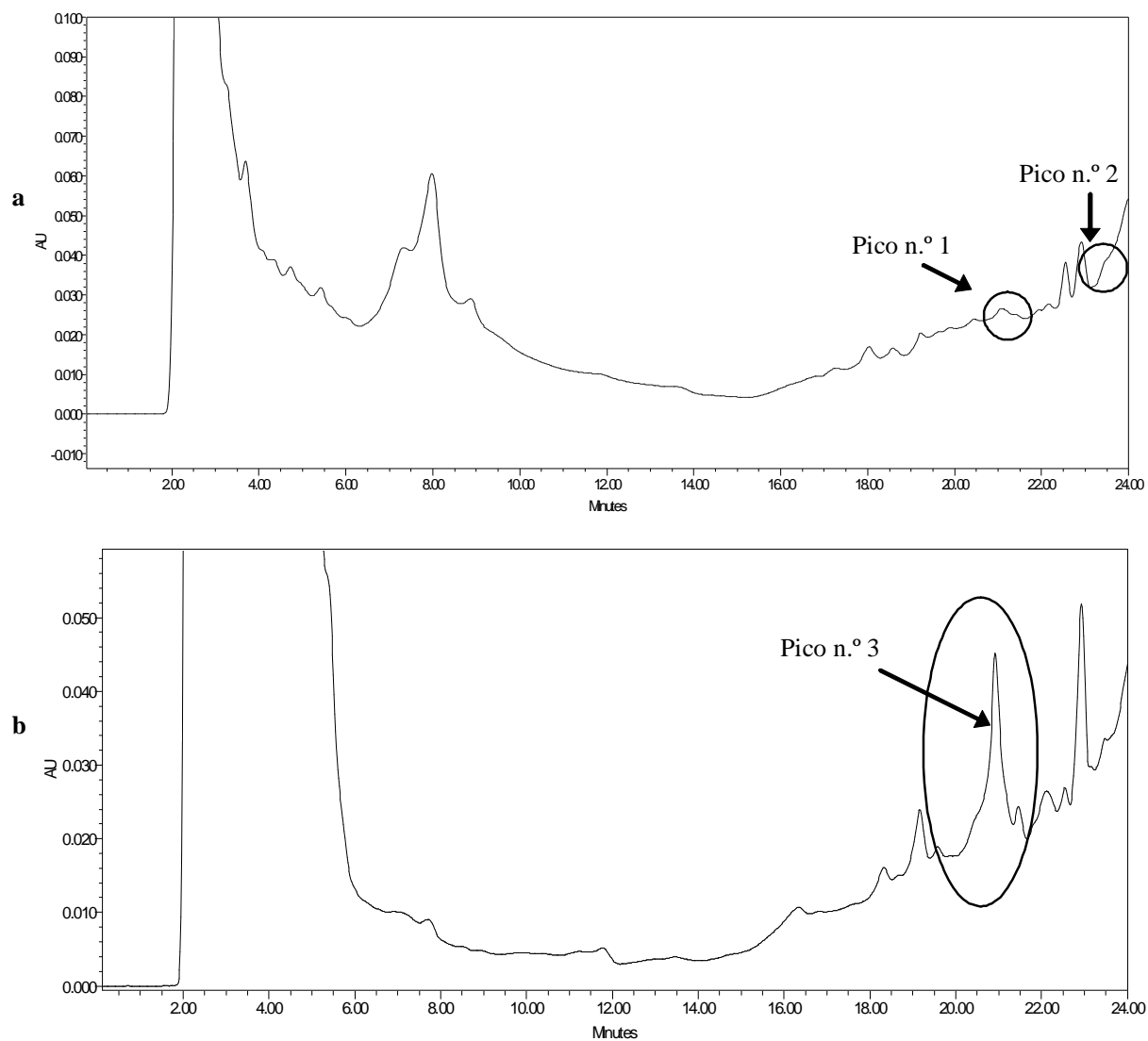


Fig. 68: Cromatograma obtido da amostra TCoração de Boi-1-3-V.N.Gaia por HPLC-DAD nos comprimentos de onda: **a)** 210,0 nm e **b)** 245,0 nm.

Os picos n.º 1, n.º 2 e n.º 3, aparecem no tempo de retenção dos pesticidas EPTC ($t_r=21,3$ minutos), butilato ($t_r=23,6$ minutos) e clorprofame ($t_r=19,4$ minutos), respectivamente. Na fig. 69 apresentam-se os espectros de UV dos pesticidas EPTC, butilato e clorprofame e dos picos n.º 1, n.º 2 e n.º 3.

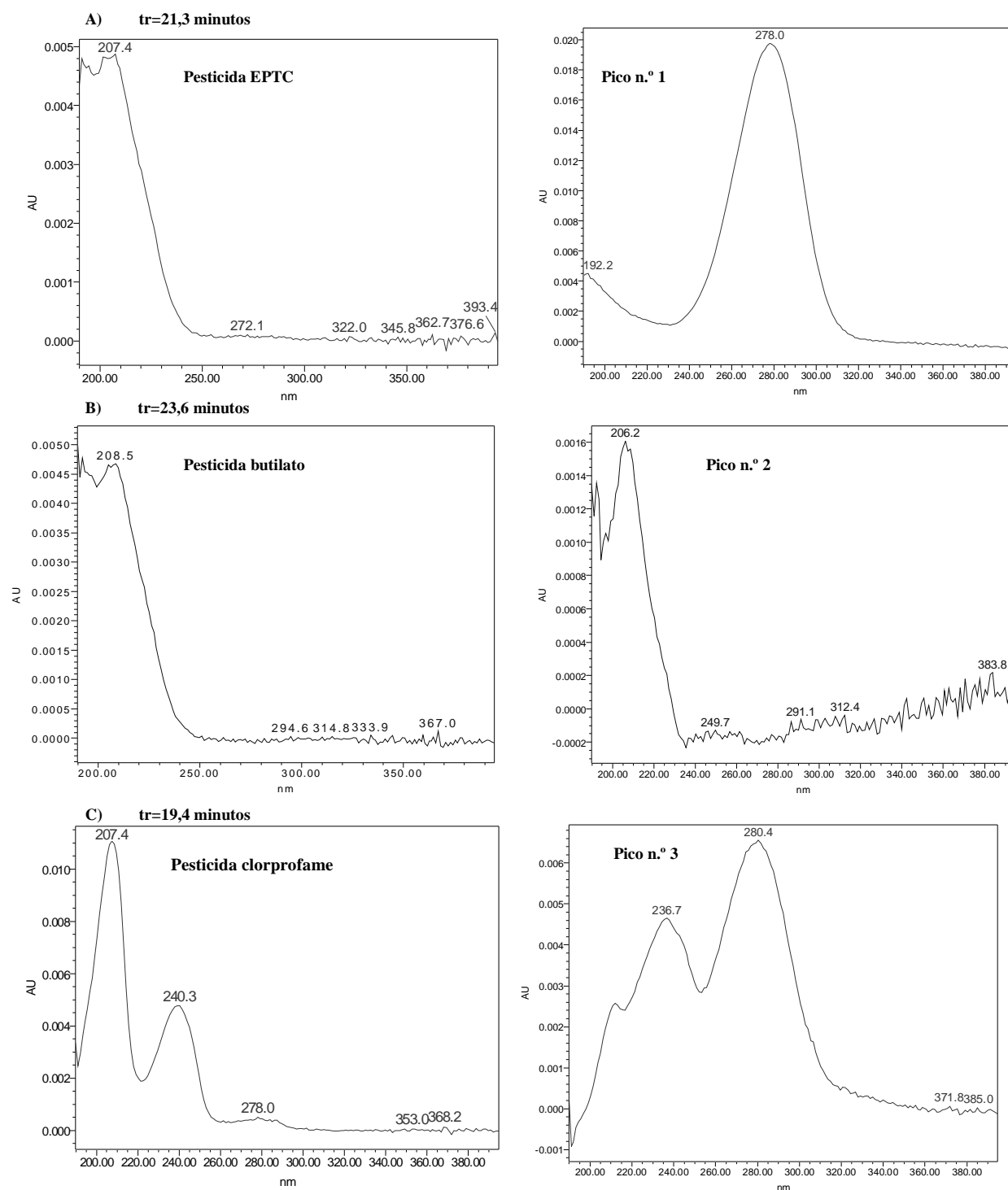


Fig. 69: Espectros de UV para os picos que aparecem no branco da amostra TCoração de Boi-1-3-V.N.Gaia para: **A)** pesticida EPTC e o pico n.º 1 ao tr de 21,3 minutos; **B)** butilato e o pico n.º 2 ao tr de 23,6 minutos e **C)** clorprofame e o pico n.º 3 ao tr de 19,4 minutos.

Ao compararmos os espectros de UV dos picos do branco da amostra TCoração de Boi-1-3-V.N.Gaia, com os pesticidas EPTC, butilato e clorprofame, verifica-se que o máximo de absorvância no pesticida EPTC é a 207,4 nm e no pico n.º 1 é a 278,0 nm. Nos espectros de UV com a designação B são muito semelhantes, e nos espectros de UV com a denominação C existem máximos de absorvância aos comprimentos de onda a ≈ 210 nm, ≈ 240 nm e ≈ 280 nm. Concluiu-se através dos espectros de UV que a amostra TCoração de Boi-1-3-V.N.Gaia:

- não estava contaminada com o pesticida EPTC;
- estava contaminada com o pesticida butilato;
- relativamente ao clorprofame a análise era inconclusiva.

Para a confirmação destas conclusões injectou-se a mesma amostra (TCoração de Boi-1-3-V.N.Gaia) na LC com detecção por MS. Verifica-se através dos espectros de massas correspondente aos pesticidas clorprofame, EPTC e butilato pela razão m/z e pelos tempos de retenção dos três pesticidas, que não aparece nenhum pico. Sendo assim, após a análise por HPLC-DAD e LC-MS, concluiu-se que a amostra TCoração de Boi-1-3-V.N.Gaia utilizada na optimização das condições de extracção é uma amostra não contaminada com os pesticidas em estudo. É de referir que o pequeno agricultor a quem se adquiriu este tipo de tomate (Coração de Boi) efectua uma produção de vegetais e frutos sem a utilização de qualquer substância activa no controle de doenças, pragas e pestes. Concluindo que os picos n.º 1, n.º 2 e n.º 3 são picos característicos da matriz do tomate Coração de Boi.

3.7. Análise de amostras reais de tomate

As amostras foram adquiridas desde o pequeno agricultor às grandes superfícies comerciais num total de vinte e oito amostras do tomate fruto. As variedades de tomate encontradas de diferentes localidades de Portugal (Maia, Porto, V.N.Gaia, Póvoa de Varzim e Coimbra) e de Espanha (Almería e Andaluzia) foram: Tomate Marmande, Tomate Roma VF, Tomate Rama, Tomate Coração de Boi, Tomate Cherry e Tomate Chucha. Analisaram-se três tipos de maturação no tomate: tomate verde, tomate a amadurecer e o tomate maduro. A mudança de cor verde para vermelho indica o início do amadurecimento do fruto, a zona da roseta (oposta ao pedúnculo), é a primeira a ficar vermelha^[268].

A produção de tomate nacional na campanha de 2004/2005 foi de 1.000.000 toneladas das quais foram produzidas 178.000 toneladas de produtos transformados (95 % são destinados à exportação)^[42], neste contexto foram igualmente analisadas seis amostras de tomate transformado: conserva de tomate pelado, polpa de tomate, ketchup, molho de atum em tomate (de Espanha), molho de sardinhas em tomate (de Espanha e de Portugal).

Utilizou-se o processo de extracção e análise cromatográfica optimizados e descritos anteriormente. De cada amostra de tomate a analisar retiraram-se três tomas e procedeu-se à extracção. Cada extracto foi injectado três vezes na HPLC com detecção por: DAD (fluxo de 0,8 mL/min) e MS (fluxo de 0,19 mL/min). Por DAD integrou-se os picos que aparecem na amostra de tomate (fruto e transformado) com o mesmo tempo de retenção dos pesticidas: carbofurão, carbaril, etiofencarbe, monolinurão, metobromurão, linurão, clorprofame, EPTC e butilato e efectuou-se a confirmação por MS através da comparação dos espectros de massa na razão m/z e o tempo de retenção da solução padrão e das amostras analisadas.

Na análise das amostras do tomate fruto verifica-se a presença de picos nos tr dos pesticidas: carbofurão, carbaril, monolinurão, clorprofame, EPTC e butilato, enquanto que na análise de amostras de tomate transformado aparecem picos nos tr dos pesticidas: etiofencarbe, monolinurão, linurão, clorprofame, EPTC e butilato. Em nenhuma das amostras analisadas foi detectado um pico no tr do pesticida metobromurão.

Após injeção das 28 amostras de tomate, apresentam-se nas tab. 37 (tomate fruto) e 38 (tomate transformado) a análise dos respectivos cromatogramas obtidos com detecção por DAD (λ , tr) e por MS (m/z , tr).

A confirmação por MS foi efectuada pela presença do ião molecular para os pesticidas: carbofurão, carbaril, etiofencarbe, metobromurão, linurão, clorprofame e butilato e pela presença do ião de confirmação para os pesticidas: monolinurão e EPTC, como se pode observar na tab. 17 no capítulo de materiais e métodos.

Tab. 37: Comprimento de onda (λ), tempo de retenção (tr), razão massa/carga (m/z) obtidos na análise de amostras reais do tomate fruto com detecção por DAD e MS.

| Amostra | | Detector | | Carbofurão | Carbaril | Monolinurão | Clorprofame | EPTC | Butilato |
|-----------------------|-----------------------|----------|-----|------------|----------|-------------|-------------|--------|----------|
| Padrão (300 µg/L) | | DAD | λ | 199,2 | 221,4 | 246,5 | 240,3 | 207,4 | 208,5 |
| | | | tr | 8,60 | 9,83 | 11,36 | 19,38 | 21,29 | 23,48 |
| | | MS | m/z | 222 | 202 | 148 | 213 | 128 | 218 |
| | | | tr | 6,16 | 7,52 | 8,40 | 9,32 | 19,97 | 22,71 |
| T _{Marmande} | 2-3-Maia | DAD | λ | 195,0 | | 236,2 | 232,0 | 234,4 | 191,0 |
| | | | tr | 8,51 | | 11,16 | 19,18 | 21,05 | 23,48 |
| | | MS | m/z | n.d. | | n.d. | n.d. | 128 | 218 |
| | | | tr | n.d. | | n.d. | n.d. | 20,64 | 23,08 |
| T _{Roma VF} | 2-2-Maia | DAD | λ | 193,0 | n.d. | 232,2 | 234,4 | 196,8 | 191,0 |
| | | | tr | 8,51 | n.d. | 11,19 | 19,17 | 21,19 | 23,47 |
| | | MS | m/z | 222 | n.d. | n.d. | n.d. | 128 | 218 |
| | | | tr | 7,23 | n.d. | n.d. | n.d. | 20,64 | 23,08 |
| | 2-3-Maia | DAD | λ | 196,8 | 199,0 | 234,4 | 234,4 | 195,7 | 191,0 |
| | | | tr | 8,52 | 9,80 | 11,09 | 19,18 | 21,20 | 23,47 |
| | | MS | m/z | n.d. | n.d. | n.d. | n.d. | 128 | 218 |
| | | | tr | n.d. | n.d. | n.d. | n.d. | 20,76 | 22,42 |
| T _{Rama} | 5-3-Almería | DAD | λ | | | | 233,2 | | |
| | | | tr | | | | 19,16 | | |
| | | MS | m/z | | | | n.d. | | |
| | | | tr | | | | n.d. | | |
| | 2-1-Maia | DAD | λ | | | 234,4 | 236,7 | 230,8 | |
| | | | tr | | | 11,19 | 19,12 | 21,18 | |
| | | MS | m/z | | | n.d. | n.d. | 128 | |
| | | | tr | | | n.d. | n.d. | 22,64 | |
| | 2-2-Maia | DAD | λ | | | 242,6 | 234,4 | 234,4 | |
| | | | tr | | | 11,14 | 19,18 | 21,123 | |
| | | MS | m/z | | | n.d. | n.d. | 128 | |
| | | | tr | | | n.d. | n.d. | 22,47 | |
| | 2-3-Maia | DAD | λ | | | 242,0 | 235,6 | 234,4 | |
| | | | tr | | | 11,14 | 19,14 | 21,08 | |
| | | MS | m/z | | | n.d. | n.d. | 128 | |
| | | | tr | | | n.d. | n.d. | 22,49 | |
| | 5-1-Norte de Portugal | DAD | λ | | | | 248,5 | 234,0 | |
| | | | tr | | | | 19,15 | 21,21 | |
| | | MS | m/z | | | | n.d. | n.d. | |
| | | | tr | | | | n.d. | n.d. | |
| | 5-2-Norte de Portugal | DAD | λ | | | | 236,7 | 234,0 | |
| | | | tr | | | | 19,69 | 21,29 | |
| | | MS | m/z | | | | n.d. | n.d. | |
| | | | tr | | | | n.d. | n.d. | |
| | 5-3-Norte de Portugal | DAD | λ | | | | 236,7 | 234,4 | |
| | | | tr | | | | 19,53 | 21,14 | |
| | | MS | m/z | | | | n.d. | n.d. | |
| | | | tr | | | | n.d. | n.d. | |

Continua

| Amostra | | Detector | | Carbofurão | Carbaril | Monolinurão | Clorprofame | EPTC | Butilato |
|-----------------------------|---------------------|----------|-----|------------|----------|-------------|-------------|-------|----------|
| T _{Rama} | 4-3-Coimbra | DAD | λ | | | | 239,1 | 232,0 | 191,0 |
| | | | tr | | | | 19,33 | 21,21 | 23,52 |
| | | MS | m/z | | | | n.d. | 128 | 218 |
| | | | tr | | | | n.d. | 20,43 | 23,18 |
| | 4-1-Póvoa de Varzim | DAD | λ | | | | 235,6 | 235 | 198 |
| | | | tr | | | | 19,27 | 21,20 | 23,55 |
| | | MS | m/z | | | | n.d. | 128 | n.d. |
| | | | tr | | | | n.d. | 20,69 | n.d. |
| | 4-2-Póvoa de Varzim | DAD | λ | | | | 240,3 | 234,4 | 191,0 |
| | | | tr | | | | 19,30 | 21,29 | 23,54 |
| | | MS | m/z | | | | n.d. | 128 | n.d. |
| | | | tr | | | | n.d. | 20,68 | n.d. |
| | 4-3-Póvoa de Varzim | DAD | λ | | | | 234,4 | 234,0 | 192,2 |
| | | | tr | | | | 19,31 | 21,23 | 23,54 |
| | | MS | m/z | | | | n.d. | 128 | n.d. |
| | | | tr | | | | n.d. | 20,64 | n.d. |
| | 6-2-Portugal | DAD | λ | | | | 252,0 | 234,0 | 191,0 |
| | | | tr | | | | 19,09 | 21,21 | 23,45 |
| | | MS | m/z | | | | n.d. | n.d. | n.d. |
| | | | tr | | | | n.d. | n.d. | n.d. |
| | 6-3-Portugal | DAD | λ | | | | 234,0 | 234,1 | 196,8 |
| | | | tr | | | | 19,22 | 21,17 | 23,45 |
| | | MS | m/z | | | | n.d. | n.d. | n.d. |
| | | | tr | | | | n.d. | n.d. | n.d. |
| T _{Coração de Boi} | 4-1-Coimbra | DAD | λ | | | | 240,3 | 196,8 | 193,0 |
| | | | tr | | | | 19,14 | 21,19 | 23,42 |
| | | MS | m/z | | | | n.d. | 128 | 218 |
| | | | tr | | | | n.d. | 20,13 | 23,08 |
| | 4-2-Coimbra | DAD | λ | | | | 234,4 | 199,0 | 191,0 |
| | | | tr | | | | 19,20 | 21,17 | 23,43 |
| | | MS | m/z | | | | n.d. | 128 | 218 |
| | | | tr | | | | n.d. | 20,13 | 23,37 |
| | 4-3-Coimbra | DAD | λ | | | | 236,7 | 196,8 | 191,0 |
| | | | tr | | | | 19,21 | 21,17 | 23,47 |
| | | MS | m/z | | | | n.d. | 128 | 218 |
| | | | tr | | | | n.d. | 20,13 | 23,48 |
| | 1-1-V.N.Gaia | DAD | λ | | | | 280,4 | 278,0 | 206,2 |
| | | | tr | | | | 19,45 | 21,30 | 23,60 |
| | | MS | m/z | | | | n.d. | n.d. | n.d. |
| | | | tr | | | | n.d. | n.d. | n.d. |
| | 1-2-V.N.Gaia | DAD | λ | | | | 283,8 | 276,2 | 206,0 |
| | | | tr | | | | 19,50 | 21,28 | 23,65 |
| | | MS | m/z | | | | n.d. | n.d. | n.d. |
| | | | tr | | | | n.d. | n.d. | n.d. |

Continua

| Amostra | | Detector | | Carbofurão | Carbaril | Monolinurão | Clorprofame | EPTC | Butilato |
|-----------------------------------|----------------------|------------|-----------|------------|----------|-------------|-------------|-------|----------|
| T_{Coração de Boi} | 1-3-V.N.Gaia | DAD | λ | | | | 286,7 | 274,4 | 202 |
| | | | tr | | | | 19,49 | 21,26 | 23,53 |
| | | MS | m/z | | | | n.d. | n.d. | n.d. |
| | | | tr | | | | n.d. | n.d. | n.d. |
| T_{Cherry} | 5-2-Andaluzia | DAD | λ | | | | 245,0 | 198,0 | |
| | | | tr | | | | 19,18 | 21,10 | |
| | | MS | m/z | | | | n.d. | 128 | |
| | | | tr | | | | n.d. | 20,64 | |
| | 5-3-Andaluzia | DAD | λ | | | | 245,0 | 198,0 | |
| | | | tr | | | | 19,10 | 21,21 | |
| | | MS | m/z | | | | n.d. | 128 | |
| | | | tr | | | | n.d. | 20,64 | |
| T_{Chucha} | 4-1-Coimbra | DAD | λ | | | | 233,2 | 198,0 | 191,0 |
| | | | tr | | | | 19,20 | 21,13 | 23,47 |
| | | MS | m/z | | | | n.d. | 128 | 218 |
| | | | tr | | | | n.d. | 20,12 | 23,47 |
| | 4-2-Coimbra | DAD | λ | | | | 240,3 | 196,8 | 193,0 |
| | | | tr | | | | 19,19 | 21,09 | 23,41 |
| | | MS | m/z | | | | n.d. | 128 | 218 |
| | | | tr | | | | n.d. | 20,12 | 23,68 |
| | 4-3-Coimbra | DAD | λ | | | | 243,8 | 192,0 | 192,2 |
| | | | tr | | | | 19,03 | 21,10 | 23,48 |
| | | MS | m/z | | | | n.d. | 128 | 218 |
| | | | tr | | | | n.d. | 20,12 | 23,62 |
| | 6-3-Portugal | DAD | λ | | | | 250,9 | 198,0 | 191,0 |
| | | | tr | | | | 19,08 | 21,18 | 23,44 |
| | | MS | m/z | | | | n.d. | n.d. | n.d. |
| | | | tr | | | | n.d. | n.d. | n.d. |

De acordo com os resultados obtidos verifica-se:

Tomate T_{Marmande}

O aparecimento por DAD de picos na amostra tomate Marmande nos tempos de retenção dos pesticidas: carbofurão, carbaril, monolinurão, clorprofame, EPTC e butilato e por MS o aparecimento de picos apenas na razão m/z 128 (EPTC) e 218 (butilato). Verifica-se por MS a não confirmação da presença dos pesticidas EPTC e butilato na amostra de tomate analisada pela comparação dos tempos de retenção na solução padrão.

Os picos que aparecem na matriz do tomate T_{Marmande} são picos não referentes aos nove pesticidas em estudo mas alusivos a picos da própria matriz.

Tomate T_{Roma VF}

Aparecem picos na matriz de tomate da variedade Roma VF por DAD nos tempos de retenção dos pesticidas: carbofurão, carbaril, monolinurão, clorprofame, EPTC e butilato. Na amostra TRoma-2-2-Maia por MS foram detectados picos na razão m/z 222 (carbofurão), 128 (EPTC) e 218 (butilato), e na amostra TRoma-2-3-Maia por MS foram detectados picos na razão m/z 128 (EPTC) e 218 (butilato). Ao comparar os tempos de retenção dos picos detectados nas amostras e na solução padrão em cada razão m/z verifica-se que não são concordantes.

Concluiu-se que as duas amostras da variedade tomate TRoma VF com diferentes estados de maturação (amadurecer e maduro), não estão contaminadas com os nove pesticidas, uma vez que não se obteve a confirmação por MS da presença do ião molecular dos pesticidas em estudo nos picos detectados por DAD.

Tomate T_{Rama}

Aparecem picos na matriz por DAD nos tempos de retenção dos pesticidas: monolinurão, clorprofame, EPTC e butilato. Por MS foram detectados nas 13 amostras de tomate analisadas (Portugal e Espanha) da variedade TRama picos na razão m/z 128 (EPTC) e 218 (butilato).

O tempo de retenção destas amostras difere do tempo de retenção obtido na solução padrão dos pesticidas EPTC e butilato. Não se obteve a confirmação por MS da contaminação dos pesticidas nas amostras do tomate fruto da variedade TRama.

Tomate T_{Coração de Boi}

Aparecem picos por DAD nas amostras de tomate Coração de Boi com os tempos de retenção semelhantes aos tempos de retenção dos pesticidas: clorprofame, EPTC e butilato. Por MS obteve-se a presença de picos na razão m/z 128 (EPTC) e 218 (butilato) nas amostras da variedade de tomate TCoração de Boi-Coimbra. O tempo de retenção do pico que aparece na razão m/z 218 nas amostras de Coimbra difere do tempo de retenção do pesticida butilato. Relativamente ao pico que aparece na razão m/z 128, o mesmo não se verifica uma vez que na razão m/z 128 o tempo de retenção obtido nas amostras de Coimbra é semelhante ao tempo de retenção do pesticida EPTC.

Por MS apenas se procedeu à identificação pelo ião molecular dos pesticidas em estudo nas amostras de tomate analisadas (fruto e transformado), esta detecção não foi utilizada para a

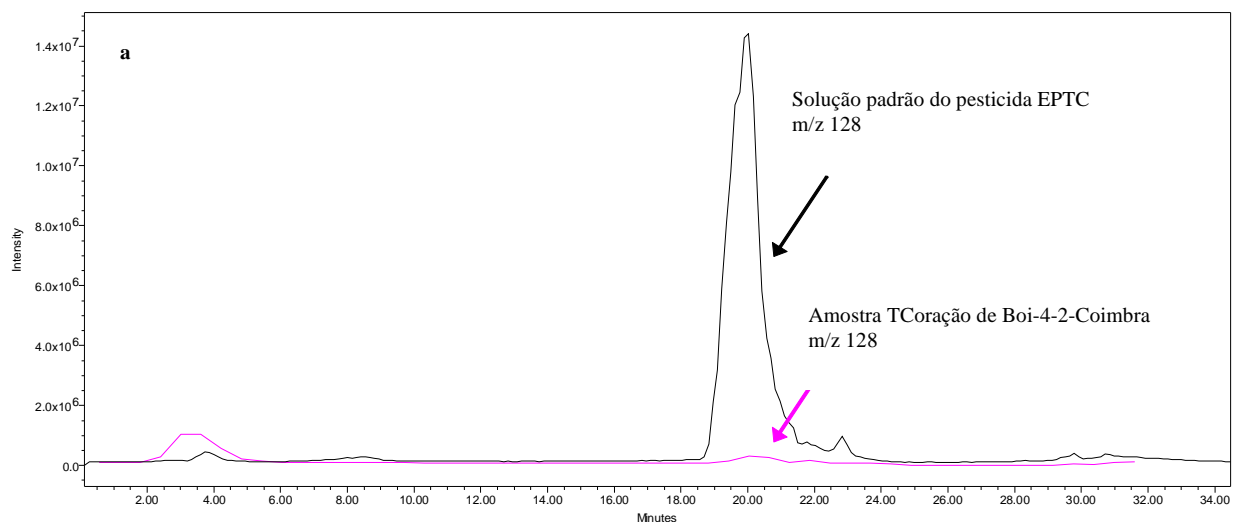
quantificação dos pesticidas presentes nas amostras, mas apenas para a confirmação da presença dos pesticidas em estudo.

De acordo com os resultados obtidos e expressos na tab. 37, verifica-se a presença do pesticida EPTC de Coimbra em três estados de maturação. Na fig. 70a, apresentam-se a sobreposição dos cromatogramas da solução padrão do pesticida EPTC de concentração 300 µg/L e da amostra TCoração de Boi-4-2-Coimbra por MS na razão m/z 128. Na fig. 70b₁ e 70b₂ ilustra-se os espectros de massa na razão m/z do pesticida EPTC (300 µg/L) e da amostra TCoração de Boi-4-2-Coimbra.

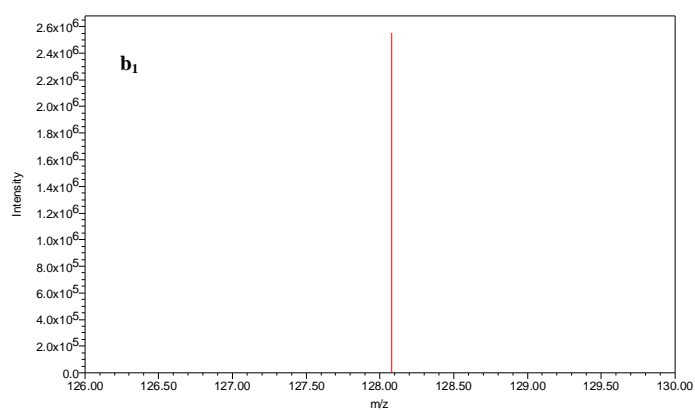
Ao efectuar a comparação pelas áreas obtidas na solução padrão do pesticida EPTC (300 µg/L) e o pico que aparece nas amostras TCoração de Boi-Coimbra na razão m/z 128 e no tempo de retenção de ≈ 21 minutos, concluiu-se que a quantidade presente de pesticida EPTC nas amostras estaria muito abaixo do LMR (3,34 µg/kg^U (concentração detectada) < 50,0 µg/kg (LMR)).

Concluiu-se que nas amostras TCoração de Boi-Coimbra obteve-se a confirmação por MS da presença do pesticida EPTC.

^UValor médio das três amostras de tomate injectadas da variedade Coração de Boi da localidade de Coimbra (TCoração de Boi-4-1-Coimbra=3,27 µg/kg; TCoração de Boi-4-2-Coimbra=3,01 µg/kg e TCoração de Boi-4-3-Coimbra=3,75 µg/kg).

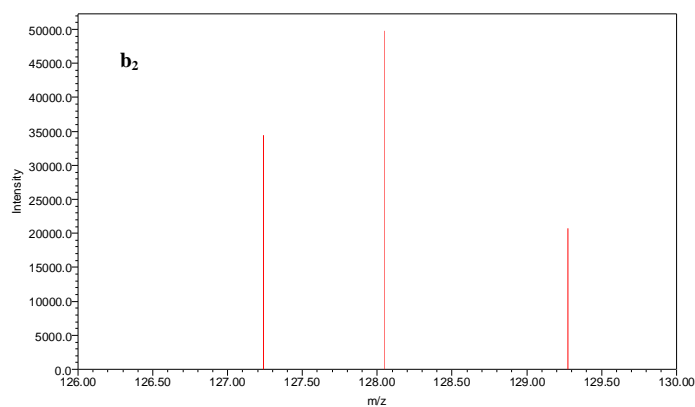


Padrão



Intensidade= $2,55 \times 10^6$

AMOSTRA



Intensidade= $5,00 \times 10^4$

Fig. 70: **a)** Sobreposição dos cromatogramas da solução padrão do pesticida EPTC e da amostra TCoração de Boi-4-2-Coimbra na razão m/z 128 por LC-MS; **b)** espectro de massa na razão m/z ; **b₁)** pesticida EPTC (300 $\mu\text{g/L}$) e **b₂)** amostra TCoração de Boi-4-2-Coimbra.

Tomate T_{Cherry}

Analísaram-se duas amostras de tomate *Cherry* da localidade de Andaluzia em Espanha, obtendo-se por DAD picos na matriz nos tempos de retenção dos pesticidas clorprofame e EPTC. Após análise das mesmas amostras por MS verificou-se a não confirmação de picos na razão m/z 213 (clorprofame) e 128 (EPTC), uma vez que os picos obtidos na razão m/z mencionados, aparecem por MS com tempos de retenção diferentes aos obtidos na solução padrão que contém os pesticidas clorprofame e EPTC.

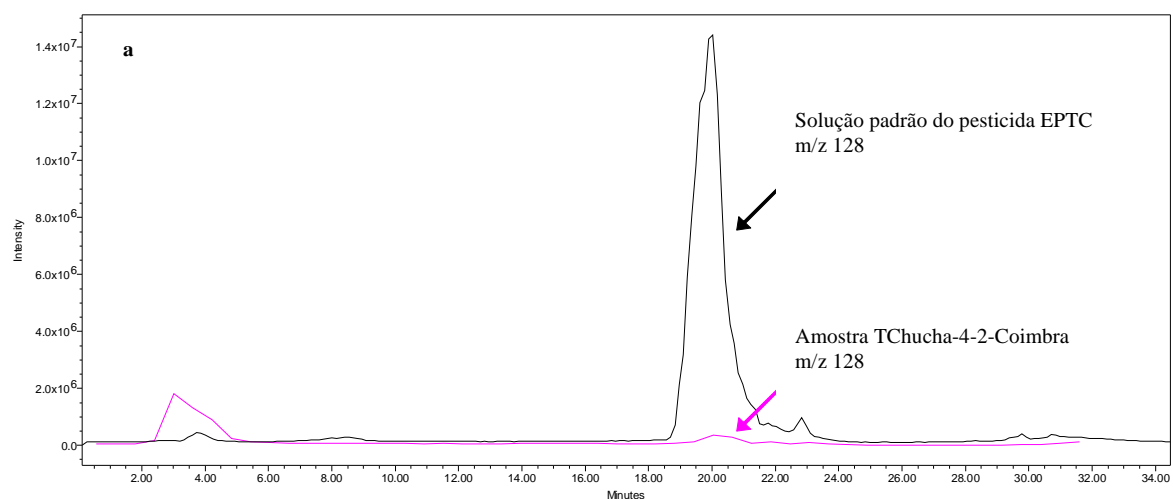
Conclui-se que as amostras T_{Cherry}-Andaluzia não estão contaminadas com os nove pesticidas.

Tomate T_{Chucha}

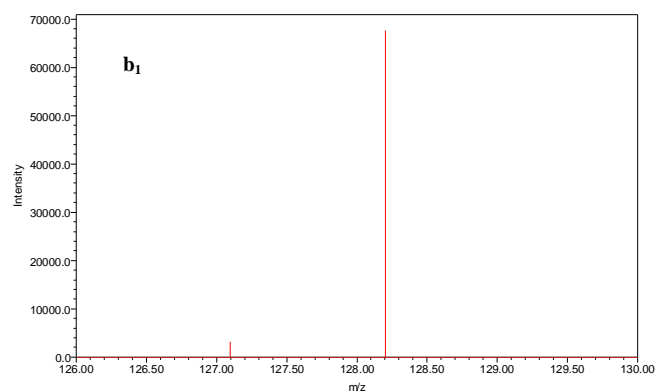
Analísaram-se quatro amostras de tomate da variedade Chucha de Portugal. De acordo com os resultados obtidos e expressos na tab. 37 verificou-se o aparecimento de picos por DAD nos tempos de retenção dos pesticidas: clorprofame, EPTC e butilato. Por MS não se obteve nenhum pico na amostra TChucha-6-3-Portugal na razão m/z de 213 (clorprofame), 128 (EPTC) e 218 (butilato). Apenas foi obtido pico na razão m/z 128 nas amostras TChucha-Coimbra (nos três estados de maturação: verde, amadurecer e maduro). Comparando os resultados obtidos por MS nas amostras de Coimbra na razão m/z 128, verifica-se que o tempo de retenção em cada amostra é semelhante ao tempo de retenção do pico na solução padrão no pesticida EPTC.

Verifica-se a presença do pesticida EPTC nas amostras TChucha-Coimbra nos três estados de maturação. De igual forma como referido na amostra TCoração de Boi-Coimbra, a quantidade presente do pesticida EPTC é muito pequena quando comparada a área do pico na amostra com a área obtida para o pesticida EPTC na solução padrão (300 µg/L) na razão m/z 128 (fig. 71). Pela relação das áreas a quantidade de pesticida EPTC presentes nas três amostras de Coimbra é inferior ao LMR (4,07 µg/kg^V (concentração detectada) < 50,0 µg/kg (LMR)).

^VValor médio das três amostras de tomate injectadas da variedade Chucha da localidade de Coimbra (TChucha-4-1-Coimbra=3,95 µg/kg; TChucha-4-2-Coimbra=4,40 µg/kg e TChucha-4-3-Coimbra=3,86 µg/kg).

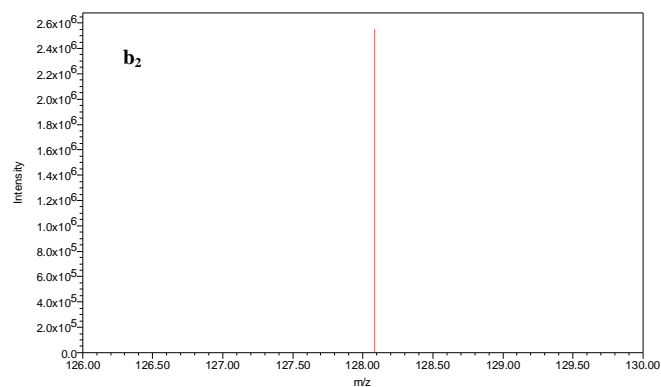


Amostra



Intensidade= $6,76 \times 10^4$

Padrão



Intensidade= $2,55 \times 10^6$

Fig. 71: **a)** Sobreposição dos cromatogramas da solução padrão do pesticida EPTC e da amostra T-Chucha-4-2-Coimbra na razão m/z 128 por LC-MS; **b)** espectro de massa na razão m/z; **b₁)** amostra T-Chucha-4-2-Coimbra e **b₂)** pesticida EPTC (300 µg/L).

Foram analisadas as amostras de tomate transformado (conserva de tomate pelado, polpa de tomate, ketchup, molho do atum em tomate de Espanha, molho de sardinhas em tomate de Espanha e de Portugal). Apresentam-se na tab. 38 os resultados obtidos após extracção por MAE e análise cromatográfica com detecção por DAD e MS.

Tab. 38: Comprimento de onda (λ), tempo de retenção (tr), razão massa/carga (m/z) obtidos na análise de amostras reais de tomate transformado com detecção por DAD e MS.

| Amostra | Detector | | Etiofencarbe | Monolinurão | Linurão | Clorprofame | EPTC | Butilato |
|---|----------|-----------|--------------|-------------|---------|-------------|-------|----------|
| Padrão (300 µg/L) | DAD | λ | 192,2 | 246,5 | 249,7 | 240,3 | 207,4 | 208,5 |
| | | tr | 10,69 | 11,36 | 17,68 | 19,38 | 21,29 | 23,48 |
| | MS | m/z | 226 | 148 | 249 | 213 | 128 | 218 |
| | | tr | 8,25 | 8,40 | 9,00 | 9,32 | 19,97 | 22,71 |
| Conserva de tomate pelado | DAD | λ | | | | 239,1 | | 191,0 |
| | | tr | | | | 19,23 | | 23,43 |
| | MS | m/z | | | | n.d. | | 218 |
| | | tr | | | | n.d. | | 22,68 |
| Polpa de tomate | DAD | λ | 192,2 | 192,2 | | | | 191,0 |
| | | tr | 10,67 | 11,23 | | | | 23,46 |
| | MS | m/z | 226 | n.d. | | | | 218 |
| | | tr | 2,75 | | | | | 22,77 |
| Ketchup | PAD | λ | | | 253,3 | | | 191,0 |
| | | tr | | | 17,60 | | | 23,47 |
| | MS | m/z | | | n.d. | | | 218 |
| | | tr | | | n.d. | | | 22,27 |
| Molho de Atum em tomate (Espanha) | DAD | λ | | 247,3 | 192,2 | | | 191,0 |
| | | tr | | 11,37 | 17,61 | | | 23,44 |
| | MS | m/z | | n.d. | n.d. | | | 218 |
| | | tr | | n.d. | n.d. | | | 22,11 |
| Molho de sardinhas em tomate (Espanha) | DAD | λ | | | | | 208,5 | 192,0 |
| | | tr | | | | | 21,35 | 23,40 |
| | MS | m/z | | | | | n.d. | 218 |
| | | tr | | | | | n.d. | 22,09 |
| Molho de sardinhas em tomate (Portugal) | DAD | λ | | | | | | 194,0 |
| | | tr | | | | | | 23,77 |
| | MS | m/z | | | | | | 218 |
| | | tr | | | | | | 22,17 |

Analisando os cromatogramas obtidos das amostras de tomate transformado, verifica-se que por DAD aparecem picos nos tempos de retenção dos pesticidas: etiofencarbe, monolinurão, linurão, clorprofame, EPTC e butilato. No entanto ao injectar as mesmas amostras por MS verificou-se o aparecimento de picos na razão m/z 226 e 218 referentes aos pesticidas

clorprofame e butilato. Não aparece por DAD e MS picos em todas as amostras de tomate transformado analisadas nos tempos de retenção dos pesticidas: carbofurão, carbaril e metobromurão. De acordo com os resultados obtidos nas injeções efectuadas e transcritos para a tab. 38, verifica-se que nas amostras de conserva de tomate pelado e polpa de tomate os resultados por DAD e MS são concordantes com os obtidos na solução padrão do pesticida butilato. O pico que aparece na razão m/z 218, é um pico muito pequeno quando comparado com a área do pico do pesticida butilato na razão m/z 218.

Nas amostras de tomate transformado (tomate pelado e polpa de tomate), confirma-se a presença do pesticida butilato no mesmo tempo de retenção por MS e DAD.

De todas as amostras analisadas, fruto ou transformado, confirmou-se a presença dos pesticidas: EPTC nas amostras tomate fruto: tomate Coração de Boi de Coimbra, Chucha de Coimbra, nos três estados de maturação e o pesticida butilato nas amostras de tomate transformado: tomate pelado e polpa de tomate, mas com níveis muito baixos ($\approx 4,00 \mu\text{g/kg}$).

Os dados obtidos por DAD não são totalmente conclusivos, uma vez que este estudo envolve a análise de amostras reais de tomate e embora apareçam picos com tempos de retenção nas amostras muito próximos dos tempos de retenção dos pesticidas em estudo, verifica-se que os espectros de absorção são diferentes. As amostras são muito complexas e nos cromatogramas obtidos aparecem não só os picos referentes aos pesticidas mas também os picos característicos da própria matriz no mesmo tempo de retenção, provocando desvios nos comprimentos de onda.

Para a obtenção de resultados mais conclusivos, a análise por MS teria de ser efectuada não só pela presença do ião molecular, mas também pelos iões de confirmação. E no caso afirmativo proceder-se-ia posteriormente a uma segunda fragmentação (LC-MS/MS), no entanto esta segunda fragmentação não pode ser realizada no nosso equipamento de LC por não ter tais requisitos.

4. CONCLUSÃO

A qualidade da produção agrícola sempre foi intensamente afectada pelo aparecimento de formas de vida indesejáveis, tais como insectos e ervas daninhas. A descoberta dos compostos orgânicos sintéticos possibilitou o aparecimento de uma vasta gama de pesticidas. No entanto, apesar dos inegáveis benefícios na agricultura, estes são o principal poluente da produção agrícola moderna, são altamente tóxicos e podem ser perigosos quando mal aplicados. A presença de resíduos de pesticidas nos alimentos pode significar um risco para a saúde do consumidor.

O uso de pesticidas carbamatos e ureias no controlo de pestes tem aumentado progressivamente nos recentes anos conjuntamente com os insecticidas organofosforados como alternativa aos pesticidas organoclorados devido ao espectro de actividade, ao desaparecimento rápido e a baixa toxicidade para os mamíferos. Este estudo envolveu a determinação de nove pesticidas de duas famílias distintas em diversas variedades de tomate e em dois tipos de solos com características físico-químicas diferentes (tipo I e tipo II). Seis pesticidas da família dos carbamatos (butilato, carbaril, carbofurão, clorprofame, EPTC e etiofencarbe) e três pesticidas da família das ureias (linurão, metobromurão e monolinurão), por serem pesticidas utilizados em algumas culturas agrícolas de maior produtividade em Portugal. De acordo com a listagem das substâncias activas com uso proibido em Portugal publicada pela Direcção Geral de Protecção de Culturas de 28/02/2005 e actualizada em 26 de Maio de 2006, os pesticidas butilato, etiofencarbe, metobromurão e monolinurão são substâncias activas proibidas de utilização em Portugal. O uso do pesticida EPTC está autorizado em Portugal até 31 de

Dezembro de 2007 ao abrigo dos "Usos Essenciais". Os pesticidas carbofurão, carbaril, clorprofame e linurão são substâncias activas com usos não proibidos em Portugal, são pesticidas incluídos na Lista Positiva Comunitária.

Numa primeira fase deste trabalho procedeu-se à caracterização em termos de pH, teor de humidade, teor de carbono orgânico, teor natural de matéria orgânica, densidade a granel e tonalidade, nas matrizes de tomate e dos dois solos.

Desenvolveu-se e optimizou-se uma metodologia baseada na extracção assistida por microondas e análise por cromatografia líquida com detecção por matriz de díodos e espectrometria de massa na detecção dos nove pesticidas em estudo. Nos últimos anos têm surgido novas técnicas de extracção menos poluentes e mais rápidas na extracção de amostras ambientais, como a extracção em fase sólida, a micro-extracção em fase sólida, a dispersão da matriz em fases sólidas, a extracção com fluido supercrítico, a extracção com líquidos pressurizados e a extracção assistida por microondas. Nos métodos tradicionais de extracção, como o soxhlet, ultra-sons e agitação mecânica, são utilizadas grandes quantidades de solventes orgânicos e tóxicos. A aplicação de técnicas de extracção mais amigas do ambiente para uma rápida extracção de matrizes sólidas faz com que a técnica extracção assistida por microondas seja uma das alternativas atraentes, uma vez que permite uma redução significativa do volume de extracção a utilizar e a possibilidade da extracção de um elevado número de amostras numa única corrida. A eficiência de extracção é significativamente influenciada pela variação de dois parâmetros: o solvente e a temperatura. Foram testados vários solventes de extracção a diferentes temperaturas, nomeadamente, acetonitrilo, hexano-acetona (1:1, v/v) e diclorometano-metanol (9:1, v/v) a 60, 70 e 80 °C. As condições óptimas encontradas para a extracção assistida por microondas em simultâneo dos pesticidas carbamatos e ureias na matriz do tomate foi o acetonitrilo a 60 °C e na matriz dos solos foi o acetonitrilo a 70 °C.

Estudou-se ainda a degradação dos pesticidas ao longo do tempo, através da injeção directa de uma solução padrão misto. As injeções foram efectuadas num período de um ano. De acordo com os resultados obtidos, a solução padrão misto contendo todos os pesticidas em estudo mantém-se aproximadamente estável durante um período de sete dias, a partir do qual novas soluções têm de ser preparadas.

Foram traçadas as curvas de calibração, recorrendo à cromatografia líquida com detecção por matriz de díodos, obtendo uma resposta linear na gama estudada (10,0 a 500 µg/L) e elevadas correlações, com valores de r^2 a variarem entre 0,9915 para o pesticida carbofurão e 0,9996 para o pesticida linurão. O método foi validado usando ensaios de recuperação a três níveis de concentração: 10,0 a 200 µg/kg na matriz do tomate e 30,0, 50,0 e 70 µg/kg para os dois solos.

Na matriz do tomate as percentagens de recuperação variaram em toda a gama de contaminação entre 54,62 % (butilato, 50 µg/kg) a 103,2 % (etiofencarbe, 30 µg/kg), com coeficientes de variação inferior a 10 %. No entanto verificou-se a obtenção de baixos valores de percentagem de recuperação para os pesticidas: carbofurão com um valor de 26,10 % no nível de contaminação de 200 µg/kg e EPTC de 26,18 % no nível de contaminação de 30 µg/kg.

O método apresenta percentagens de recuperação baixas para os pesticidas EPTC e butilato nos três níveis de contaminação nos dois solos estudados e para o pesticida etiofencarbe no solo do tipo II nas contaminações de 50,0 e 70 µg/kg. Os valores de percentagem de recuperação obtidas para os restantes pesticidas nos dois solos foram de:

- Solo tipo I 30 µg/kg 72,61 % (clorprofame) a 112,5 % (monolinurão);
 50 µg/kg 99,63 % (metobromurão) a 120,3 % (clorprofame);
 70 µg/kg 82,46 % (carbofurão) a 106,9 % (clorprofame);
 com coeficientes de variação inferiores a 10 %.

- Solo tipo II 30 µg/kg 69,58 % (etiofencarbe) a 90,33 % (monolinurão);
 50 µg/kg 76,76 % (linurão) a 98,92 % (carbaril);
 70 µg/kg 75,80 % (clorprofame) a 97,52 % (carbaril);
 com coeficientes de variação inferiores a 10 %.

Foram analisadas vinte e oito amostras de tomate fruto (tomate Marmande, tomate Roma VF, tomate Rama, tomate Coração de Boi, tomate Chucha e tomate *Cherry*) recolhidas de diferentes localidades de Portugal e de Espanha e seis amostras de tomate transformado (tomate pelado, polpa de tomate, ketchup, sardinhas em molho de tomate de Espanha, sardinhas em molho de tomate de Portugal, atum em molho de tomate de Espanha). Utilizou-se as condições optimizadas no processo de extracção (acetonitrilo a 60 °C) e injectou-se os extractos na cromatografia líquida com detecção por matriz de díodos e espectrometria de massa. Através dos cromatogramas obtidos por detecção por matriz de díodos integrou-se os picos com o mesmo tempo de retenção dos nove pesticidas e efectuou-se a confirmação por espectrometria de massa através da comparação dos espectros na razão m/z e o tempo de retenção das soluções padrão. Na análise das amostras de tomate fruto por detecção por matriz de díodos verificou-se a presença de picos nos tempos de retenção dos pesticidas: carbofurão, carbaril, monolinurão, clorprofame EPTC e butilato enquanto que na análise de amostras de tomate transformado apareceram picos nos tempos de retenção dos pesticidas: etiofencarbe, monolinurão, linurão, clorprofame, EPTC e butilato. Em nenhuma amostra analisada (fruto e transformado) foi

detectado um pico no tempo de retenção do pesticida metobromurão. A confirmação dos resultados por espectrometria de massa foi apenas efectuada pela presença do ião molecular para cada pesticida. De todas as amostras analisadas, confirmou-se a presença dos pesticidas EPTC nas amostras de tomate fruto: tomate Coração de Boi de Coimbra e tomate Chucha de Coimbra nos três estados de maturação e do pesticida butilato nas amostras de tomate transformado: tomate pelado e polpa de tomate, no entanto com níveis muito abaixo dos permitidos pela legislação.

O estudo foi alargado à extracção de pesticidas (butilato, carbaril, carbofurão, clorprofame, EPTC, etiofencarbe e linurão) nos seguintes vegetais: batata, cenoura, cebola e repolho. Foram testados três solventes de extracção a 60 °C (acetonitrilo e as misturas: hexano-acetona (1:1, v/v) e diclorometano-metanol (9:1, v/v)). Concluiu-se que apenas nas matrizes de batata e repolho o método desenvolvido permite a detecção de quatro dos pesticidas utilizados na contaminação das matrizes. Enquanto que nas matrizes de cenoura e cebola não foram detectados nenhuns dos pesticidas em estudo devido aos picos característicos destas matrizes.

Em termos de perspectivas futuras para dar continuidade a este trabalho desenvolvido, apresenta-se de seguida as seguintes sugestões:

- Aplicar outros processos de extracção (Soxhlet, agitação mecânica, ultra-sons, etc.) e comparar os resultados obtidos com a técnica MAE; otimizar a etapa de redução de interferentes presentes nas matrizes de produtos agrícolas.
- Analisar os nove pesticidas estudados num maior leque de produtos agrícolas.
- Desenvolver e validar uma metodologia de análise por espectrometria de massa para os pesticidas estudados. Analisar amostras reais detectando os pesticidas pelo ião molecular e também através dos iões de confirmação. No caso de dúvida proceder em seguida a uma dupla fragmentação (LC-MS/MS), caso o cromatógrafo utilizado permita tal operação.

5. BIBLIOGRAFIA

- 1 www.univ-ab.pt/cursos/cca/guia_de_curso, Pós-graduação em Ciências do Consumo Alimentar, Coordenação: Prof^a. Doutora Ana Pinto de Moura, (Ano lectivo 2004-2005).
- 2 <http://www.iambiente.pt/rea03/adquira.html>, "**REA 2003 Portugal, Relatório de Estado do Ambiente 2003**", da autoria do Instituto do Ambiente (IA) com a colaboração da Universidade do Algarve, foi apresentado publicamente em Fevereiro de 2005, Instituto do Ambiente, Ministério do Ambiente, do Ordenamento do Território e do Desenvolvimento Regional, (acedido no dia 14-09-2006).
- 3 http://www.aje.pt/dh/pdf/dh308_18.pdf, "**Problemática da qualidade e segurança alimentar na distribuição de pescado**", Manuel Abreu Dias, (2003), (acedido no dia 08-07-2006).
- 4 Nero L. A., "**Listeria monocytogenes e Salmonella spp. em Leite Cru Produzido em Quatro Regiões Leiteiras no Brasil: Ocorrência e Factores Que Interferem na Sua Detecção**", Tese de Doutoramento, São Paulo-Brasil, (Abril de 2005), 21-33.
- 5 Trevizan L. R. P., "**Resíduos de acefato, de seu metabólito metamidofós e de clorotalonil em cultura protegida de tomate (*Lycopersicon esculentum* Mill) e de campo**", Tese de Doutoramento, Piracicaba, Estado de São Paulo-Brasil, (Novembro de 2002), 1-17.
- 6 Trevisan M. J., "**Resíduos de Carbosulfan e de seus metabólitos carbofuran e 3-hidroxi-carbofuran em frutos e folhas de laranjeira [*Citrus sinensis* (L.) Osbeck], determinados por cromatografia em fase gasosa**", Tese de Mestrado, Piracicaba, Estado de São Paulo-Brasil, (Novembro de 2002), 1-24.
- 7 "**O Novo Alimentos Bons, Alimentos Perigosos: Guia prático para uma alimentação segura e saudável**", Foods That Harm Foods That Heal, (2005), Selecções do Reader's Digest.
- 8 "**REA 2004 Portugal, Relatório de Estado do Ambiente 2004**", da autoria do Instituto do Ambiente (IA) com a colaboração da Universidade do Algarve, apresentado publicamente em Abril de 2006, Instituto do Ambiente, Ministério do Ambiente, do Ordenamento do Território e do Desenvolvimento Regional, (acedido no dia 11-07-2006).

- 9 <http://www.confagri.pt/Ambiente/AreasTematicas/Solo/TextoSintese/Antecedentes/>, "**SOLOS**", (2006), (acedido no dia 11-07-2006).
- 10 da Silva M. A. S., "**Extracção por Solventes in-pulp de Solos Contaminados com Compostos Orgânicos**", Tese de Mestrado, Mestrado em Engenharia do Ambiente, Faculdade de Engenharia da Universidade do Porto, (2004).
- 11 <http://www.iambiente.pt/rea99/adquira.html>, "**REA 1999 Portugal, Relatório de Estado do Ambiente 1999**", da autoria do Instituto do Ambiente (IA), Instituto do Ambiente, Ministério do Ambiente, do Ordenamento do Território e do Desenvolvimento Regional, (2005), (acedido no dia 11-07-2006).
- 12 http://www.e-macrobioica.com/artigo_a_vegetais.htm, "**Vegetais**", Francisco Varatojo, (acedido no dia 14-03-2006).
- 13 <http://pt.wikipedia.org/wiki/Cebola>, "**Cebola**", (acedido no dia 14-03-2006).
- 14 <http://www.confagri.pt/Ambiente/curiosidades/curiosidade7.htm>, "**Cebola**", Confragi, (12-09-2005), (acedido no dia 29-06-2006).
- 15 <http://criareplantar.com.br/agricultura/cebola/cebola.php?tipoConteudo=texto&idConteudo=1319>, "**História e Botânica, Pragas e Moléstias**", (acedido no dia 14-03-2006).
- 16 <http://www.sensibilidadeesabor.com.br/cebola.html>, "**Cebola**", grupo.com.br, (acedido no dia 14-03-2006).
- 17 Haigh Charlotte; "**TOP 100: Alimentos para o sistema imunitário**", (2005), Sinais de Fogo-Publicações, Lda.
- 18 <http://www.confagri.pt/Ambiente/curiosidades/curiosidade5.htm>, "**Cenoura**", Confragi, (12-09-2005), (acedido no dia 29-06-2006).
- 19 <http://pt.wikipedia.org/wiki/Cenoura>, "**Cenoura**", (acedido no dia 14-03-2006).
- 20 <http://pt.wikipedia.org/wiki/Couve>, "**Couve, Couve-galega, Couve-flor, Repolho, Brócolos**", (acedido no dia 14-03-2006).
- 21 <http://www2.correioweb.com.br/hotsites/alimentos/repolho/alimentos.htm>, "**Repolho**", (acedido no dia 09-07-2006).
- 22 <http://www.iac.sp.gov.br/Tecnologias/Repolho/Repolho.htm>, "**Hortalças: Repolho (Brassica oleracea L. var. capitata L.)**", (acedido no dia 09-07-2006).
- 23 <http://pt.wikipedia.org/wiki/Batata>, "**Batata**", (acedido no dia 14-03-2006).
- 24 <http://www.agroportal.pt/x/agronoticias/2005/10/04a.htm>, "**Botânica: Batata cultivada teve uma só origem, no Peru**", AgroNotícias, (Washington, 04 de Outubro de 2005), (acedido no dia 14-03-2006).
- 25 <http://www.confagri.pt/Ambiente/curiosidades/curiosidade6.htm>, "**Batata**", Confragi, (12-09-2005), (acedido no dia 29-06-2006).
- 26 <http://www.copacabanarunners.net/tomates.html>, "**Tomate**", (acedido no dia 29-04-2006).
- 27 <http://www.sensibilidadeesabor.com.br/tomate.html>, "**Tomate**", grupo.com.br, (acedido no dia 29-04-2006).
- 28 <http://pt.wikipedia.org/wiki/Tomate>, "**Tomate**", (acedido no dia 29-04-2006).
- 29 <http://www.carrefour.pt/servicos/fileira-qualidade-tomate.aspx>, "**Tomate**", (acedido no dia 29-04-2006).
- 30 <http://www.vitaminasecia.hpg.ig.com.br/tomateorientacao.htm>, "**Tomate: Vitaminas**", (acedido no dia 29-04-2006).
- 31 <http://sistemasdeproducao.cnptia.embrapa.br.htm>, "**Cultivo de Tomate para Industrialização**", ISSN-Embrapa Hortalça, (Janeiro de 2003), (acedido no dia 19-07-2006).

- 32 <http://www.vidaintegral.com.br/nutricao/tomateazeite.php>, "**Tomate e Azeite Previnem Doenças Cardíacas**", Vida Integral-mais do que um Jornal, um estilo de vida, (27 de Dezembro de 2005), (acedido no dia 07-05-2006).
- 33 http://www.saudenainternet.com.br/fitoterapia/fitoterapia_16.shtml, "**Os Benefícios do Tomate**", (acedido no dia 29-04-2006).
- 34 <http://www.correiodamanha.pt/noticia.asp?id=193761&idselect=11&idCanal=11&p=94>, "**Os industriais e produtores de tomate portugueses estão preocupados com a invasão no mercado europeu do tomate proveniente da China, país que em cinco anos se transformou no terceiro maior produtor mundial**", Correio da Manhã, (acedido no dia 14-03-2006).
- 35 http://www.agenciafinanceira.iol.pt/noticia.php?id=651902&div_id=1730, "**Tomate nacional vale 140 milhões de euros**", (27 de Fevereiro de 2006), (acedido no dia 14-03-2006).
- 36 <http://www.ribatejodigital.pt/ribatejodigital/PT/ConhecaRibatejo/CostumesTradicoes/tomatearroz.htm>, "**O Tomate e o Arroz Ribatejanos**", (acedido no dia 29-04-2006).
- 37 <http://www.fao.org/es/ess>, "**Tomatoes Production**", Food And Agriculture Organization Of The United Nations, (acedido no dia 01-07-2006).
- 38 http://www.syngenta.pt/producao_desc.asp?culturalID=7, "**Tomateiro**", (acedido no dia 29-04-2006).
- 39 <http://www.agroportal.pt/x/agronoticias/2006/02/24e.htm>, "**Indústria: Transformação de tomate facturou 140 ME em 2005 com 95% para exportar**", Lisboa, AgroNotícias, (23 de Fevereiro de 2006), (acedido no dia 29-04-2006).
- 40 <http://www.agroportal.pt/x/agronoticias/2006/02/24h.htm>, "**Indústria: Seminário internacional reflecte sobre estratégias futuras da fileira**", Lisboa, AgroNotícias, (23 de Fevereiro de 2006), (acedido no dia 29-04-2006).
- 41 <http://www.agroportal.pt/x/agronoticias/2006/03/04.htm>, "**Tomate: Fábrica de Mora exporta 90 por cento da produção para a Europa**", Mora, Évora, AgroNotícias, (03 de Março de 2006), (acedido no dia 14-03-2006).
- 42 http://www.evoradistritodigital.pt/Members/eddigital/news_item.2006-03-02.1747443087 "**IV Feira Nacional do Tomate**", Mora, Évora, (Março de 2006), (acedido no dia 14-03-2006).
- 43 <http://www.agroportal.pt/x/agronoticias/2006/03/06.htm>, "**Produtores tomate antecipam novas quedas de preço em 2006**", AgroNotícias, (Lisboa, 05 de Março de 2006), (acedido no dia 14-03-2006).
- 44 http://www.cm-mora.pt/pag_noticias/feiras_tematicas.html, "**Portugal é o Terceiro Maior Produtor Mundial de Tomate**", Feira Temáticas-IV Feira Nacional do Tomate, (acedido no dia 29-04-2006).
- 45 <http://pubol.ipbeja.pt/Artigos/Tomate%20para%20ind%FAstria2.htm>, "**Tomate para Indústria, Que Futuro?**" Francisco Caetano Palma & Manuel Carvalho da Silva, (acedido no dia 29-04-2006).
- 46 <http://www.confagri.pt/nr/exeres/3393a76d-96c0-4183-a5ee-d526437ec3e0.htm>, "**Decidida a Ajuda ao Tomate - 2006/2007**", (acedido no dia 11-07-2006).
- 47 <http://www.dgpc.pt>, "**Duas Importantes Virose na Cultura do Tomateiro; Medidas de Protecção Fitossanitária**", Direcção-Geral detecção das Culturas, (acedido no dia 29-04-2006).
- 48 http://www.selectis.pt/Mildio_do_tomateiro.htm, "**Inimigos das Culturas: Míldio do Tomateiro**", (acedido no dia 11-07-2006).
- 49 http://www-biol.paisley.ac.uk/bioref/Fungi/Botrytis_cinerea.html, "**Botrytis cinerea Pers.**", Biological Sciences, University of Paisley, Biodiversity Reference, (acedido no dia 11-07-2006).
- 50 <http://www.syngenta.pt>, "**Quadro de tratamento: Tomate**", (acedido no dia 29-04-2006).

- 51 <http://faem.ufpel.edu.br/dfs/patologiasementes/cgi-bin/seedes/detalhes.cgi?praga=89>, "*Alternaria dauci*", (acedido no dia 11-07-2006).
- 52 Blat S. F.; "*Herança da Reacção De Capsicum spp. Ao Oídio (Leveillula tauria (LEV.) ARN)*", Piracicaba-Estado de São Paulo-Brasil, Tese de Doutorado, (Fevereiro-2004).
- 53 <http://proteccaointegrada.biosani.com/defaultCategoryViewOne.asp?categoryID=316>, "*Lagarta-do-Tomate*", (acedido no dia 29-04-2006).
- 54 Alves S. M. G. B.; "*Noctuídeos Em Culturas Hortícolas Protegidas Na Região Oeste: monitorização, distribuição espacial e avaliação do parasitismo*", Universidade dos Açores Departamento de Ciências Agrárias, Terra-Chã, (2001).
- 55 http://www.dgpc.min-agricultura.pt/docs_pdf/ResultadosZP2003.pdf, "*Resultados das prospecções nas zonas protegidas-2003*", (2003), (acedido no dia 11-07-2006).
- 56 <http://www.geocities.com/~esabio/moscabranca.htm>, "*Mosca Branca*", (acedido no dia 11-07-2006).
- 57 http://www.umass.edu/umext/schoolipm/ipm_multi_language.pdf, "What is Integrated; Pest Management?", Craig Hollingsworth, United States Department of Agriculture cooperating, (acedido no dia 29-06-2006).
- 58 De Caíres S. M., Castro J. G. D., "*Desenvolvimento dos agrotóxicos usados por produtores rurais do município de Alta Floresta-Mato Grosso*", Revista de Biologia e Ciência da Terra, 2, (2º semestre 2002), ISSN 1519-5228.
- 59 Turner S.M., <http://www.acs.org/govt/pubs/5st44h.htm>, "*Pesticides*", ACS séries, (1996), (acedido no dia 12-03-2005).
- 60 <http://www.dgpc.min-agricultura.pt/upload/membro.id/ficheiros/i006291.pdf>, "*Vendas de produtos fitofarmacêuticos, em Portugal em 2001*", Ministério da Agricultura, do Desenvolvimento Rural e das Pescas, Direcção-Geral de Protecção das Culturas, Direcção de Serviços de Produtos Fitofarmacêuticos, DGPC-DSPF, PPA(AB)-01/03, (20 de Julho de 2005), (acedido no dia 07-07-2006).
- 61 Barroso. M. de F. de S., "*Métodos Analíticos em Processos de Biodegradação de Pesticidas-O Molinato*", Tese de Mestrado, Mestrado em Engenharia do Ambiente, Faculdade de Engenharia da Universidade do Porto, 2002.
- 62 Gonçalves F. M., www.segurancaetrabalho.com.br/download/agrotoxicos-goncalves.ppt, "*Agrotóxicos-O controle de saúde dos trabalhadores expostos*", Congresso ANAMT-GOIÂNIA (Maio-2004), (acedido no dia 16-09-2006).
- 63 <http://www.epa.gov>, Environmental Protection Agency (EPA), (acedido no dia 12-03-2005).
- 64 Carpenter G.P., Robert, L., Holman, H. W., <http://www.uidaho.edu/wq/wqpubs/cis865.html>, "*Pesticides And Their Movement In Soil And Water*", Current information series n.º 865, University of Idaho, EUA, (2002), (acedido no dia 12-03-2005).
- 65 Correia M. M. B., "*Desenvolvimento de metodologias analíticas para a determinação de resíduos de produtos fitossanitários em vinhos*", Tese de Doutorado, Faculdade de Engenharia da Universidade do Porto, (2003).
- 66 Flores A. V., Ribeiro J. N., Neves A. A., de Queiroz E. L. R., http://www.scielo.br/scielo.php?pid=S1414-753X2004000200007&script=sci_arttext, "*Organoclorados: um problema de saúde pública*", Ambient. Soc., 7, (2004), (acedido no dia 16-09-2006).
- 67 Formosinho S., <http://paginas.fe.up.pt/~jotace/saudepublica/principioprocauca.htm>, "*Saúde pública*", CCI, (acedido no dia 16-09-2006).
- 68 Ahmed F. E., "*Analyses of pesticides and their metabolites in foods and drinks*", Trends in analytical chemistry, 20, (2001), 649-661.

- 69 www.flworkshop.com/2004/alder3.pdf, "**Pesticides: The first blockbuster**", Lutz Alder, **41th Annual Florida Pesticide Residue Workshop, 2004-07-19**, (acedido no dia 06-06-2006).
- 70 Teixeira M. J. V. P., "*Desenvolvimento e validação de metodologias analíticas para a análise de pesticidas em uvas*", Tese de Mestrado, Mestrado em Controlo de Qualidade, Faculdade de Farmácia da Universidade do Porto, (1995).
- 71 Domingues V. M. F., "*Utilização de um produto natural (cortiça) como adsorvente de pesticidas piretróides em águas*", Tese de Doutoramento, Faculdade de Engenharia da Universidade do Porto, (2005).
- 72 www.sociologos.org.br/teses/paulo/cap5.doc, "**Pesticidas e Ecologia Humana**", Capítulo V, (acedido no dia 29-06-2006).
- 73 Correia M. M. B., "*Influência da atrazina sobre a degradação biológica de efluentes vitivinícolas*", Tese de Mestrado, Mestrado em Engenharia do Ambiente, Faculdade de Engenharia da Universidade do Porto, (1997).
- 74 Fao; www.fao.org, Codex Alimentarius FAO/WHO, (acedido no dia 21-06-2006).
- 75 www.dgpc.min-agricultura.pt/fitofarmaceuticos/AGRO_16/agro16_resumo.htm, "**Projecto nº 16: Redução do risco de resistência de infestantes a herbicidas em diferentes culturas**", Direcção Geral de Protecção de Culturas, (acedido no dia 14-03-2006).
- 76 <http://www.2fc.up.pt/pessoas/rasilva/her8html>, "**Protecção integrada de plantas**", Docência-Herbologia-Recursos, (acedido no dia 11-03-2005).
- 77 http://cji.graciosa.no.sapo.pt/insecticidas_organicas.htm, "**Insecticidas biológicas**", (acedido no dia 19-09-2006).
- 78 http://www.institutovirtual.pt/edu-agri-biotec/pdf/ficha_3.pdf, "**Protecção de Plantas**", Ficha temática n.º 3, (2001), (acedido no dia 29-06-2006).
- 79 www.antt.gov.br/acpublicas/apublica2003-08/APublica2003-08_06.pdf, "**Classe 6-Substâncias Tóxicas e Substâncias Infectantes**", Capítulo 2.6, (acedido no dia 29-06-2006).
- 80 The WHO recommend classification of pesticides by hazard and guidelines to classification, WHO Chronicle, (1975), 29, 397-401.
- 81 Nogueira J.M.F., Sandra T., Sandra P., "*Multiresidue screening of neutral pesticides in water samples by high performance liquid chromatography-electrospray mass spectrometry*", Analytica Chimica Acta, 505, (2004), 209-215.
- 82 Gou Y., Eisert R., Pawliszyn J., "*Automated in-tube solid-phase microextraction-high-performance liquid chromatography for carbamate pesticides analysis*", Journal of Chromatography A, 873, (2000), 137-147.
- 83 Granby K., Andersen J.H., Christensen H.B., "*Analysis of pesticides in fruit, vegetables and cereals using methanolic extraction and detection by liquid chromatography-tandem mass spectrometry*", Analytical Chimica Acta, (2004), 165-176.
- 84 Bogialli S., Curini R., Di Corcia A., Laganà A., Nazzari M., Tonci M., "*Simple and rapid assay for analyzing residues of carbamate insecticides in bovine milk: hot water extraction followed by liquid chromatography-mass spectrometry*", Journal of Chromatography A, 1054, (2004), 351-357.
- 85 Mickova B., Kovalczuk T., Rauch P., Moreno M. J., Abad A., Montoya A., Ferri E., Fini F., Girotti S., "*Analytical performances of validated chemiluminescent enzyme immunoassays to detect N-methylcarbamate pesticides*", Analytica Chimica Acta, 528, (2005), 243-248.

- 86 Caldas L. Q. de A., "*Intoxicações exógenas agudas por carbamatos, organofosforados, compostos bipiridílicos e piretróides*", CCIn-Centro de Controle de Intoxicação, <http://www.cepis.ops-oms.org/bvstox/p/fulltext/intoxica/intoxica.pdf#search=%22aparecimento%20%20dos%20carbamatos%22>, (acedido no dia 14-03-2006),
- 87 Abad A., Moreno M.J., Pelegrí R., Martínez M.I., Sáez A., Gamón M., Montoya A., "*Determination of carbaril, carbofuran and methiocarb in cucumbers and strawberries by monoclonal enzyme immunoassays and high-performance liquid chromatography with fluorescence detection. An analytical comparison*", Journal of Chromatography A, 833 (1999), 3-12.
- 88 Sun L., Lee H.K., "*Optimization of microwave-assisted extraction and supercritical fluid extraction of carbamate pesticides in soil by experimental design methodology*", Journal of Chromatography A, 1014, (2003), 165-177.
- 89 Del Carlo M., Mascini M., Pepe A., Diletti G., Compagnone D., "*Screening of food samples for carbamate and organophosphate pesticides using an electrochemical bioassay*", Food Chemistry, 84, (2004), 651-656.
- 90 Nikolelis D.P., Simantiraki M.G., Siontorou C.G., Toth K., "*Flow injection analysis of Carbofuran in foods using air stable lipid film based acetylcholinesterase biosensor*", Analytical Chimica Acta, 537, (2005), 169-177.
- 91 Fernández M., Picó Y., Manes J., "*Determination of carbamate residues in fruits and vegetables by matrix solid-phase dispersion and liquid chromatography-mass spectrometry*", Journal of Chromatography A, 871 (2000), 43-56.
- 92 Nunes G. S., Ribeiro M. L., Polese L., Barceló D., "*Comparison of different clean-up procedures for the determination of N-methylcarbamate insecticides in vegetable matrices by high-performance liquid chromatography with UV detection*", Journal of Chromatography A, 795 (1998), 43-51.
- 93 Pogacnik L., Franko M., "*Detection of organophosphate and carbamate pesticides in vegetable sample by a photothermal biosensor*", Biosensors and Bioelectronics, 18, (2003), 1-9.
- 94 Ministério da Saúde, Secretaria de Vigilância em Saúde, Coordenação Geral de Vigilância Ambiental em Saúde, Relatório de Assessoria Técnica concedida à Coordenação Regional da Bahia (CORE- BA) no Município de Feira de Santana - BA, (2003).
- 95 Graça S. M. L. S. D., "*Utilização de fungicidas ditiocarbamatos*", Direcção Regional de Agricultura de Entre Douro e Minho, Divisão de laboratórios, (1996).
- 96 Caldas E.D., Miranda M. C. C., Conceição M. H., de Souza L. C. K. R., "*Dithiocarbamates residues in Brazilian food and the potential risk for the consumers*", Food and Chemical Toxicology, 42, (2004), 1877-1883.
- 97 Blasco C., Font G., Picó Y., "*Determination of dithiocarbamates and metabolites in plants by liquid chromatography-mass spectrometry*", Journal of Chromatography A, 1028 (2004), 267-276.
- 98 Tomlin C.D.S., "*The Pesticide Manual*", British Crop Protection Council eleven edition, Farnham, U. K., 1991.
- 99 Sánchez-Brunete C., Rodríguez A., Tadeo J.L., "*Multiresidue analysis of carbamate pesticides in soil by sonication-assisted extraction in small columns and liquid chromatography*", Journal of Chromatography A, 1007, (2003), 85-91.
- 100 Orejuela E., Silva M., "*Monitoring some phenoxyl-type N-methylcarbamate pesticide residue in fruit juices using high-performance liquid chromatography with peroxyoxalate-cheminescence detection*", Journal of Chromatography A, 1007, (2003), 197-201.

- 101 Prados-Rosales R. C., Herrera M. C., Luque-García J. L., de Castro M. D. L., "*Study of the feasibility of focused microwave-assisted Soxhlet extraction of N-methylcarbamates in soil*", Journal of Chromatography A, 953, (2002), 133-140.
- 102 Sun L., Lee H. K., "*Stability studies of propoxur herbicides in environmental water samples by liquid chromatography-atmospheric pressure chemical ionization ion-trap mass spectrometry*", Journal of Chromatography A, 1014, (2003), 153-163.
- 103 <http://www.planetaorganico.com.br/agrothist2.htm>, "*Agrotóxicos: o que são e como se classificam*", (acedido no dia 29-06-2006).
- 104 J. D. Winefordner, "*Sample Preparation Techniques In Analytical Chemistry*", Wiley-Interscience, A John Wiley & Sons, Inc., Publication, 162, (2003), Edited by Somenath Mitra, Department of Chemistry and Environmental Science New Jersey Institute of Technology.
- 105 Caballo-López, de Castro M. D. L., "*Continuous ultrasound-assisted extraction coupled to on line filtration-solid-phase extraction-column liquid chromatography-post column derivatisation-fluorescence detection for the determination of N-methylcarbamates in soil and food*", Journal of Chromatography A, 998, (2003), 51-59.
- 106 Delgado M. J. S., Barroso S. R., Fernández-Tostado T., Pólo-Díez L. M., "*Stability studies of carbamate pesticides and analysis by gas chromatography with flame ionization and nitrogen-phosphorus detection*", Journal of Chromatography A, 921, (2001), 287-296.
- 107 Sun L., Lee H. K., "*Microwave-assisted extraction behaviour of non-polar and polar pollutants in soil with analysis by high-performance liquid chromatography*", J. Sep. Sci., 25, (2002), 67-76.
- 108 <http://paginas.terra.com.br/esporte/st0rmthc/curiosidades.htm>, "*Ureias*", (acedido no dia 14-03-2006).
- 109 Martínez-Galera M., López-López T., Gil-García M. D., Martínez-Vidal J. L., Vasquez P. P., "*Determination of benzoylureas in tomato by high-performance liquid chromatography using continuous on-line post-elution photoirradiation with fluorescence detection*", Journal of Chromatography A, 918, (2001), 79-85.
- 110 de La Huebra M. J. G., Hernández P., Ballesteros Y., Hernández L., "*Determination of Linuron in soil by stripping voltammetry with carbon fiber microelectrode*", Talanta, 54, (2001), 1077-1085.
- 111 Faria L. J. da S., "*Avaliação de diferentes sorventes na extração em fase sólida de pesticidas em água*", São Paulo, Brasil, (2004), 1-79, Tese de Mestrado.
- 112 Carabias-Martínez R., Rodríguez-Gonzalo E., Herrero-Hernández E., Hernández-Méndez J., "*Simultaneous determination of phenyl- and sulfonylurea herbicides in water by solid-phase extraction and liquid chromatography with UV diode array or mass spectrometric detection*", Analytica Chimica Acta, 517, (2004), 71-79.
- 113 Berrada H., Font G., Moltó J. C., "*Application of solid-phase microextraction for the determination phenylurea herbicides and their homologous anilines from vegetables*", Journal of Chromatography A, 1042, (2004), 9-14.
- 114 Molins C., Hogendoorn E.A., Dijkman E., Heusinkveld H.A.G., Baumann R.A., "*Determination of linuron and related compounds in soil by microwave-assisted solvent extraction and reversed phase liquid chromatography with UV detection*", Journal of Chromatography A, 869, (2000), 487-496.
- 115 Vieira M. G., <http://www.dgpc.min-agricultura.pt/upload/membro.id/ficheiros/i006884.pdf>, "*Vendas de produtos fitofarmacêuticos, em Portugal em 2004*", Ministério da Agricultura, do Desenvolvimento Rural e das Pescas, Direcção-Geral de Protecção das Culturas, Direcção de Serviços de Produtos Fitofarmacêuticos, DGPC-DSPF, PPA(AB)-03/05, (21 de Dezembro de 2005), (acedido no dia 17-09-2006).

- 116 *"Harmonised list of active substances contained in plant protection products"*, European Comission, Eurostat, PEST/06/02/2005, (2005).
- 117 Bossi R., Vejrup K. V., Mogensen B. B., Asman W. A. H, *"Analysis of polar pesticides in rainwater in Denmark by liquid chromatography-tandem mass spectrometry"*, Journal of Chromatography A, 957, (2002), 27-36.
- 118 Maciel E., *"Desenvolvimento e validação de metodologia analítica de multiresíduos para quantificação de resíduos de pesticidas em manga"*, Tese de Mestrado, Piracicaba, Estado de São Paulo-Brasil, (Janeiro de 2005), 1-17.
- 119 Compilado Por: César J. Reis Bento de Carvalho, J. C. Robalo e Paula Barros; *"Produtos Fitofarmacêuticos"*, Informação referente ao 2º trimestre de 2006, DGPC - DSPF, PPA(H/D) -3/2006, Oeiras, Julho 2006.
- 120 Agência Nacional de Saúde Suplementar- Diretoria Colegiada, Ministério da Saúde, Diário Oficial, Nº 92, quarta-feira, 15 de Maio de 2002, ISSN 1676-2339, (2002), (acedido no dia 20-09-2006).
- 121 <http://www.dgpc.min-agricultura.pt/upload/membro.id/ficheiros/i007271.pdf>, *"Actualização LMR Maio de 2006 "*, Relatório LMR sa de 28/02/2005 actualizado em 26 de Maio de 2006, Substância Activa, LMR, Produto Agrícola (2005), 1-61, (acedido no dia 07-07-2006).
- 122 http://www.dgpc.min-agricultura.pt/fitofarmaceuticos/lista/subst_activas, *"Lista de substâncias activas"*, Direcção Geral de Protecção das Culturas (DGPC), (acedido no dia 20-09-2006).
- 123 Nunes G. S., Marco M. P., Ribeiro M. L., Barceló D., *"Validation of an immunoassay method for the determination of traces of carbaryl in vegetable and fruit extracts by liquid chromatography with photodiode array and mass spectrometric detection"*, Journal of Chromatography A, 823, (1993), 109-120.
- 124 de Carvalho S. P. L., *"Resíduos de deltametrina e de carbaril em dois sistemas de condução da cultura de tomate estaqueado (Lycopersicon esculentum Mill) e sua eficiência no controle da broca-pequena-do-fruto Neoleucinodes elegantalis (Guenée, 1854) (Lepidoptera: Crambidae)"*, Tese de Mestrado, Piracicaba, Estado de São Paulo-Brasil, (Dezembro de 2003), 1-25.
- 125 Goto T., Ito Y., Oka H., Saito I., Matsumoto H., Nakazawa H., *"Simple and rapid determination of N-methylcarbamate pesticides in citrus fruits by electrospray ionization tandem mass spectrometry"*, Analytica Chimica Acta, 487, (2003), 201-209.
- 126 <http://www.sapecagro.pt/internet/lmr>, *"Tomateiro"*, Sapec-Protecção de culturas, (acedido no dia 02-08-2005).
- 127 Recena M. C. P., Pires D. X., Caldas E. D., *"Acute poisoning with pesticides in the state of Mato Grosso do Sul, Brazil"*, Science of the Total Environment, 357, (2006), 88-95.
- 128 <http://www.antidoto-portugal.org/portal/PT/29/default.aspx>, *"Insecticidas, Carbamatos"*, Programa Antídoto-Portugal, (acedido no dia 20-09-2006).
- 129 Barroso M. de F. de S., Vaz M. C., Delerue-Matos C., *"Comportamento electroquímico do etiofencarbe em eléctrodo de carbono vítreo"*, Comunicação Oral-O.10, Universidade Católica, (2003).
- 130 Frenich A. G., Vidal J. L., M., López T. L., Aguado S. C., Salvador I. M., *"Monitoring multi-class pesticide residues in fresh fruits and vegetables by liquid chromatography with tandem mass spectrometry"*, Journal of Chromatography A, 1048 (2004), 199-206.
- 131 da Silva C. L., de Lima E. C., Tavares M. F. M., *"Investigation of preconcentration strategies for the trace analysis of multi-residue pesticides in real samples by capillary electrophoresis"*, Journal of Chromatography A, 1014, (2003), 109-116.

- 132 Sánchez-Martín M. J., Delgado-Pascual R., Iglesias-Jiménez E., Sánchez-Camazano M., "*Determination of linuron in aqueous soil extracts by high-performance liquid chromatography*", Journal of Chromatography A, 754, (1996), 295-299.
- 133 Silva C. R., Jardim I. C. S. F., Airoidi C., "*Evaluation of the applicability and stability of a C18 stationary phase containing embedded urea groups*", Journal of Chromatography A, 987, (2003), 139-146.
- 134 Hogenboom A. C., Hofman M. P., Kok S. J., Niessen W. M. A., Brinkman U. A. Th., "*Determination of pesticides in vegetables using large-volume injection column liquid chromatography-electrospray tandem mass spectrometry*", Journal of Chromatography A, 892, (2000), 379-390.
- 135 Regulamento do Parlamento Europeu e pelo Conselho n.º178/2002/CE de 28-01-2002.
- 136 <http://www.congrafi.htm>, "*Produtos Fitofarmacêuticos no Ambiente /homologação*", Confragi, (18-07-2005), (acedido no dia 19-07-2005).
- 137 www.europa.eu.int, "*Novos teores máximos de pesticidas para os produtos alimentares destinados a consumo humano e animal*", (acedido no dia 11-03-2005).
- 138 <http://www.europa.eu.int/europa.eu.int.htm>, "*Estratégia temática da utilização sustentável dos pesticidas*", SCADPlus, (acedido no dia 12-03-2005).
- 139 Directiva 2006/59/CE da Comissão de 28 de Junho de 2006, que altera os anexos das Directivas 76/895/CEE, 86/362/CEE e 90/642/CEE do Conselho, no que diz respeito aos limites máximos de resíduos de carbaril, deltametrina, endossulfão, fenitrotião e oxamil, Jornal Oficial da União Europeia L175/65.
- 140 Thurman E. M., Ferrer I., Fernández-Alba A. R., "*Matching unknown empirical formulas to chemical structure using LC/MS TOF accurate mass and database searching: example of unknown pesticides on tomato skins*", Journal of Chromatography A, 1030, (2005), 127-134.
- 141 Ferrer I., Garcia-Reyes J. F., Mezcuca M., Thurman E. M., Fernández-Alba A. R., "*Multi-residue pesticide in fruits and vegetables by liquid chromatography-time-of-flight mass spectrometry*", Journal of Chromatography A, 1082, (2005), 81-90.
- 142 Jan M.R., Shah J., Khan H., "*Investigation of new indirect spectrophotometric method for the determination of Carbofuran in carbamate pesticides*", Chemosphere, 52, (2003), 1623-1626.
- 143 Blasco C., Font G., Picó Y., "*Multiple-stage mass spectrometric analysis of six pesticides in oranges by liquid chromatography-atmospheric pressure chemical ionization-ion trap mass spectrometry*", Journal of Chromatography A, 1043, (2004), 231-238.
- 144 Compilado Por: César J. Reis António Pires Dias, Bento de Carvalho, Filomena Bento e J. C. Robalo; "*Produtos Fitofarmacêuticos*", Informação referente ao 3º trimestre de 2003, DGPC-DSPF; PPA(H/D)-07/2003, Oeiras, Outubro 2003.
- 145 "*Amostragem e preparação de Amostras: da Teoria à Prática*", (19-20 de Março de 2001), Curso de amostragem e preparação de amostras, realizado no Instituto Superior de Engenharia do Porto.
- 146 Directiva de 2002/63/CE estabelece métodos de amostragem comunitários para o controlo oficial de resíduos de pesticidas no interior e à superfície de produtos de origem vegetal ou animal e revoga a Directiva 79/700/CEE, Jornal Oficial das Comunidades Europeias.

- 147 Regulamento (CE) N.º 178/2006 DA COMISSÃO de 1 de Fevereiro de 2006, altera o Regulamento (CE) n.º 396/2005 do Parlamento Europeu e do Conselho a fim de estabelecer o seu anexo I, que enumera os géneros alimentícios e os alimentos para animais aos quais se aplicam limites máximos de resíduos de pesticidas, Jornal Oficial da União Europeia.
- 148 Costa Letícia M., Korn Maria Das Graças A., Castro Jacira T., Santos Wagna P. C., Carvalho Edivan V., Nogueira Ana Rita A., "*Panejamento fatorial aplicado à digestão de amostras de feijão assistida por radiação microondas*", Quim. Nova, 29, (2006), 149-152.
- 149 Gonzalez M., Miglioranza K. S. B., De Moreno J. E. A., Moreno V. J., "*Evaluation of conventionally and organically produced vegetables for high lipophilic organochlorine pesticide (OCP) residues*", Food and Chemical Toxicology, 43, (2005), 261-269.
- 150 Cass Quezia B., "*Desenvolvimento de Métodos por HPLC: Fundamentos, Estratégias e Validação*", Universidade Federal de São Carlos, (Dezembro de 2001), 1-77, Editora da UFSCar.
- 151 Melo L. F. C., "*Desenvolvimento de metodologias e de novos materiais para determinar multiresidue de pesticidas em uvas e tomate por cromatografia líquida de alta eficiência*", Tese de Doutorado, Piracicaba, Estado de São Paulo-Brasil, 1-71.
- 152 Ortelli D., Edder P., Corvi C., "*Multiresidue analysis of 74 pesticides in fruit and vegetables by liquid chromatography-electrospray-tandem mass spectrometry*", Analytica Chimica Acta, 520, (2004), 33-45.
- 153 Taylor M. J., Hunter K., Hunter K. B., Lindsay D., Le Bouhellec S., "*Multi-residue method for rapid screening and confirmation of pesticides in crude extracts of fruits and vegetables using isocratic liquid chromatography with electrospray tandem mass spectrometry*", Journal of Chromatography A, 982, (2002), 3225-3236.
- 154 Frenich A.G., Vidal J.L.M., López-López T., Aguado C.S., Salvador I.M., "*Monitoring multi-class pesticide residue in fresh fruit and vegetables by liquid chromatography with tandem mass spectrometry*", Journal of Chromatography A 1048, (2004), 199-206.
- 155 Fernández J. M., Vázquez P. P., Vidal J. L. M., "*Analysis of N-methylcarbamates insecticides and some of their main metabolites in urine with liquid chromatography using diode array detection and electrospray mass spectrometry*", Analytica Chimica Acta, 4123 (2000), 131-139.
- 156 Arrebola F. J., Vidal J. L. M., González-Rodríguez M. J., Garrido-Frenich A., Morito N. S., "*Reduction of analysis time in gas chromatography-tandem mass spectrometry to the determination of pesticide residues in vegetables*", Journal of Chromatography A, 1005, (2004), 131-141.
- 157 Sannino A., Bolzoni L., Bandini M., "*Application of liquid chromatography with electrospray tandem mass spectrometry to the determination of a new generation of pesticides in processed fruits and vegetables*", Journal of Chromatography A, 1036, (2004), 161-169.
- 158 Pacioni N. L., Veglia A. V., "*Determination of carbaryl and carbofuran in fruits and tap water by β -cyclodextrin enhanced fluorimetric method*", Analytica Chimica Acta, 488 (2003), 193-202.
- 159 Moraes S. L., Rezende M. O. O., Nakagawa L. E., Luchini L. C., "*Análise de resíduos de pesticidas em tomates por cromatografia em camada líquida*", Quim. Nova, 25, (2002), 196-202.
- 160 Tadeo J. L., Sánchez-Brunete C., Pérez R. A., Fernández M. D., "*Analysis of herbicide residues in cereals, fruit and vegetables*", Journal of Chromatography A, review, 882, (2000), 175-191.

- 161 Hamscher G., Hartung J., Nogosseck M. I., Glunder G., Nau H., "**Determination of propoxur residues in eggs by liquid chromatography-diode array detection after treatment of stocked housing facilities for the poultry red mite (*Dermanyssus gallinae*)**", *Analytica Chimica Acta*, 483, (2003), 19-26.
- 162 Tamayo F. G., Martin-Esteban A., "**Selective high performance liquid chromatography imprinted-stationary phases for the screening of phenylurea herbicides in vegetable samples**", *Journal of Chromatography A*, (2005).
- 163 Nunes G. S., Skládal P. Yamanaka H., Barcelo D., "**Determination of carbamate residue in crop samples by cholinesterase-based biosensors and chromatographic techniques**", *Analytica Chimica Acta*, 362, (1998), 59-68.
- 164 Soler C., Hamilton B., Furey A., James K. J., Mañes J., Picó Y., "**Optimization of LC-MS/MS using triple quadrupole mass analyzer for the simultaneous analysis of carbosulfan and its main metabolites in oranges**", *Analytica Chimica Acta* (2006).
- 165 Goto T., Ito Y., Yamada S., Matsumoto H., Okab H., Nagase H., "**The high throughput analysis of N-methylcarbamate pesticides in fruits and vegetables by liquid chromatography electrospray ionization tandem mass spectrometry using a short column**", *Analytica Chimica Acta*, 555, (2006), 225-232.
- 166 Ambrus A., Fuzesi I., Susan M., Dobi D., Lantos J., Zakar F., Korsos I., Olah J., Beke B. B., Katavics L., "**A Cost-Effective Screening Method for Pesticide Residue Analysis in Fruits, Vegetables, and Cereal Grains**", *Journal of Environmental Science and Health*, 40, (2005), 297-339.
- 167 Fouquik-Brouard C. M., Fournier J. M., "**Adsorption-desorption and leaching of phenylurea herbicides on soils**", *Talanta* 43, (1996), 1793-1802.
- 168 Palchetti I., Cagninia A., Del Carlo M., Coppi C., Mascini M., Tumerb A. P. F., "**Determination of anticholinesterase pesticides in real samples using a disposable biosensor**", *Analytica Chimica Acta*, 337, (1997), 315-325.
- 169 Huertas-Pérez J. F., García-Campaña A. M., Gámiz-Gracia L., González-Casado A., Iruela M. Del O., "**Sensitive determination of carbaryl in vegetal food and natural waters by flow-injection analysis based on the luminol chemiluminescence reaction**", *Analytica Chimica Acta*, 524 (2004), 161-166.
- 170 Ito Y., Goto T., Yamada S., Matsumoto H., Okab H., Takahashi N., Nakazawa H., Nagase H., Ito Y., "**Application of dual counter-current chromatography for rapid sample preparation of N-methylcarbamate pesticides in vegetable oil and citrus fruit**", *Journal of Chromatography A*, 1108, (2006), 20-25.
- 171 Babic S., Petrovic M., Kastelan-Macan M., "**Ultrasonic solvent extraction of pesticides from soil**", *Journal of Chromatography A*, 823, (1998), 3-9.
- 172 Buszewski B., Rutkowski T., Zebrowski W., "**Isolation and Determination of Urea Herbicides in Soil by Hyphenated Chromatographic Techniques**", *Journal of Liquid Chromatography & Related Technologies*, 29, (2006), 1933-1949.
- 173 Newsome W. H., Doucet J., Davies D., Sun W. F., "**Pesticide residues in the Canadian Market Basket Survey 1992 to 1996**", *Food Additives and Contaminants*, 17, (2000), 847-854.
- 174 Berrada H., Font G., Moltó J. C., "**Determination of Urea Pesticide Residues in Vegetable, Soil, and Water Samples**", *Critical Reviews in Analytical Chemistry*, 33, (2003), 19-41.
- 175 Pang G.-F., Fan C.-L., Liu Y.-M., Cao Y.-Z., Zhang J.-J., Fu B.-L., Li X.-M., Li Z.-Y., Wu Y.-P., "**Multi-residue method for the determination of 450 pesticide residues in honey, fruit juice and wine by double-cartridge solid-phase extraction/gas chromatography-mass spectrometry and liquid chromatography-tandem mass spectrometry**", *Food Additives and Contaminants*, 23, (2006), 777-810.

- 176 Andreu V., Picó Y.; *"Determination of pesticides and their degradation products in soil: critical review and comparison of methods"*, Trends in Analytical Chemistry, 23, (2004), 772-789.
- 177 Cesnik B. H., Gregorcic A., Velikonja B., Kmecl V., *"Monitoring of pesticide residues in apples, lettuce and potato of the Slovene origin, 2001–04"*, Food Additives and Contaminants, February, 23, (2006), 164-173.
- 178 Clavljo M. P., Medina M. P., Asensio J. S., Bernal J.G., *"Decay study of pesticide residues in apple samples"*, Journal of Chromatography A 740, (1996), 146-150.
- 179 Escuderos-Morenas M. L., Santos-Delgado M. J., Rubio-Barrosos S., Polo-Díez L. M., *"Direct determination of monolinuron, linuron and chlorbromuron residues in potato samples by gas chromatography with nitrogen-phosphorus detection"*, Journal of Chromatography A, 1011, (2003), 143-153.
- 180 Vega A. B., Frenich A. G., Vidal J. L. M., *"Monitoring of pesticides in agricultural water and soil samples from Andalusia by liquid chromatography coupled to mass spectrometry"*, Analytica Chimica Acta, 538, (2005), 117-127.
- 181 Tariqa M. I., Afzalb S., Hussain I., *"Degradation and persistence of cotton pesticides in sandy loam soils from Punjab, Pakistan"*, Environmental Research 100, (2006), 184–196.
- 182 Stajnbaher D., Zupancic-Kralj L., *"Multiresidue method for determination of 90 pesticides in fresh fruits and vegetables using solid-phase extraction and gas chromatography-mass spectrometry"*, Journal of Chromatography A, 1015, (2003), 185-198.
- 183 Rossi S., Dalpero A. P., Ghini S., Colombo R., Sabatini A. G., Girotti S., *"Multiresidual method for the gas chromatographic analysis of pesticides in honeybees cleaned by gel permeation chromatography"*, Journal of Chromatography A, 905, (2001), 223-232.
- 184 Soleas G. J., Yan J., Hom K., Goldberg D. M., *"Multiresidue analysis of seventeen pesticides in wine by gas chromatography with mass-selective detection"*, Journal of Chromatography A, 882, (2000), 205-212.
- 185 Pena F., Cardenas S., Gallego M., Valcarcel M., *"Analysis of phenylurea herbicides from plants by GC/MS"*, Talanta, 56, (2002), 727-734.
- 186 Carabias-Martínez R., García-Hermida C., Rodríguez-Gonzalo E., Soriano-Bravo F.E., Hernández-Méndez J., *"Determination of herbicides, including thermally labile phenylureas, by solid-phase microextraction and gas chromatography–mass spectrometry"*, Journal of Chromatography A, 1002, (2003), 1-12.
- 187 Hernández M., Picó Y., Manes J., *"Determination of carbamate residues in fruits and vegetables by matrix solid-phase dispersion and liquid chromatography-mass spectrometry"*, Journal of Chromatography A, 871, (2000), 43-56.
- 188 Morzycka B., *"Simple method for the determination of trace levels of pesticides in honeybees using matrix solid-phase dispersion and gas chromatography"*, Journal of Chromatography A, 882, (2002), 267-273.
- 189 Ferrer C., Gómez M. J., Garcia-Reyes J. F., Ferrer I., Thurman E. M., Fernández-Alba A. R., *"Determination of pesticides residues in olives and olive oil by matrix solid-phase dispersion followed by gas chromatography/mass spectrometry and liquid chromatography/tandem mass spectrometry"*, Journal of Chromatography A, 1069, (2005), 183-194.
- 190 Arribas A. S., Bermejo E., Chicharro M., Zapardiel A., *"Application of matrix solid-phase dispersion to the protham and maleic hydrazide determination in potatoes by differential pulse voltammetry and HPLC"*, Talanta, (2006).
- 191 Kaihara A., Yoshii K., Tsumura Y., Nakamura Y., Ishimitsu S., Tonogai Y., *"Multiresidue analysis of pesticides in fresh fruits and vegetables by supercritical fluid extraction and HPLC"*, Journal of Health Science, 46, (2000), 336-342.

- 192 Stuart I. A., Ansella R. O., Maclachlana J., Bathera P. A., Gardinerb W. P., "*Five-way ANOVA Interaction Analysis of the Selective Extraction of Carbaryl, Pirimicarb and Aldicarb From Soils by Supercritical Fluid Extraction*", Analyst, 122, (1997), 303-308.
- 193 Dagnac T., Bristeau S., Jeannot R., Mouvet C., Baran N., "*Determination of chloroacetanilides, triazines and phenylureas and some of their metabolites in soils by pressurised liquid extraction, GC-MS/MS, LC-MS and LC-MS/MS*", Journal of Chromatography A, 1067, (2005), 225-233.
- 194 Soler C., Mañes J., Picó Y., "*Determination of carbosulfan and its metabolites in oranges by liquid chromatography ion-trap triple-stage mass spectrometry*", Journal of Chromatography A, 1109, (2006), 228-241.
- 195 Font N., Hernández F., Hogendoorn E. A., Baumannb R.A., Van Zoonenb P., "*Microwave-assisted solvent extraction and reversed-phase liquid chromatography-UV detection for screening soils for sulfonylurea herbicides*", Journal of Chromatography A, 798, (1998), 179-186.
- 196 Björklund E. C. S., "*Analytical-scale microwave-assisted extraction*", Journal of Chromatography A, 902, (2000), 227-250.
- 197 Molins C., Hogendoorn E. A., Heusinkveld H. A. G., Vanharten D. C., Vanzoonen P., Baumann R. A., "*Microwave assisted solvent extraction (MASE) for the efficient determination of triazines in soil samples with aged residues*", Chromatographia, 43, (1996), 527-532.
- 198 Xiong G., Liang J., Zou S., Zhang Z., "*Microwave-assisted extraction of atrazine from soil followed by rapid detection using commercial ELISA kit*", Analytica Chimica Acta, 371, (1998), 97-103.
- 199 Xiong G. Tang B., He X., Zhao M., Zhang Z., Zhang Z.; "*Comparison of microwave-assisted extraction of triazines from soils using water and organic solvents as the extractants*", Talanta, 48, (1999), 333-339.
- 200 Morais S., Tavares O., Baptista-Paíga P. C., Delerue-Matos C., "*Anodic Adsorptive Stripping Voltammetric Determination of Atrazine in Spiked Soil Samples with a Gold Microelectrode*", Analytical Letters, 37, (2004), 3271-3286.
- 201 Tavares O., Morais S., Paíga P., Delerue-Matos C., "*Determination of ametryn in soils via microwave-assisted solvent extraction coupled to anodic stripping voltammetry with a gold ultramicroelectrode*", Anal Bioanal Chem, 382, (2005), 477-484.
- 202 Barnabas I.J., Dean J.R., Fowles I.A., Owen S.P., "*Extraction of polycyclic aromatic-hydrocarbons from highly contaminated soils using microwave-energy*", ANALYST, 120, (1995), 1897-1904.
- 203 Chee K. K., Wong M. K., Lee H. K., "*Optimization of microwave-assisted solvent extraction of polycyclic aromatic hydrocarbons in marine sediments using a microwave extraction system with high-performance liquid chromatography fluorescence detection and gas chromatography mass spectrometry*", Journal of Chromatography A, 723, (1996), 259-271.
- 204 Lopez-Avila V., Benedicto J., Charan C., Young R., "*Determination of PCBs in Soil Sediments by Microwave-Assisted Extraction and GC/ECD or ELISA*", Environ. Sci. Technol., 29, (1995), 2709-2712.
- 205 Lopez-Avila V., Benedicto J., "*Microwave-assisted extraction combined with gas chromatography and enzyme-linked immunosorbent assay*", TRAC-Trends in Analytical Chemistry, 15, (1996), 334-341.
- 206 Xiong G., Hebm X., Zhang Z., "*Microwave-assisted extraction or saponification combined with microwave-assisted decomposition applied in pretreatment of soil or mussel samples for the determination of polychlorinated biphenyls*", Analytica Chimica Acta, 413, (2000), 49-56.

- 207 Sun Y., Takaoka M., Takeda N., Matsumoto T., Oshita K., *"Application of microwave-assisted extraction to the analysis of PCBs and CBzs in fly ash from municipal solid waste incinerators"*, Journal of Hazardous Materials A, 137, (2006), 106-112.
- 208 P. Herbert, S. Morais, P. Paíga, A. Alves, L. Santos, *"Analysis of PCBs in soils and sediments by microwave-assisted extraction, headspace-SPME and high resolution gas chromatography with ion-trap tandem mass spectrometry"*, Intern. J. Environ. Anal. Chem., 86, (2006), 391-400.
- 209 Ho Wu-Hsiung, Hsieh Swoo-Jin; *"Solid phase microextraction associated with microwave assisted extraction of organochlorine pesticides in medicinal plants"*, Analytica Chimica Acta, 428, (2001), 111-120.
- 210 Barriada-Pereira M., Concha-Graña E., González-Castro M. J., Muniategui-Lorenzo S., López-Mahía P., Prada-Rodríguez D., Fernández-Fernández E., *"Microwave-assisted extraction versus Soxhlet extraction in the analysis of 21 organochlorine pesticides in plants"*, Journal of Chromatography A, 1008, (2003), 115-122.
- 211 Concha-Graña E., Barriada-Pereira M., Turnes-Carou M. I., Muniategui-Lorenzo S., López-Mahía P., Prada-Rodríguez D., *"Microwave extraction of organochlorine pesticides from soils"*, Anal Bioanal Chem, 375, (2003), 1225-1228.
- 212 Barriada-Pereira M., Gonzalez-Castro M. J., Muniategui-Lorenzo S., Lopez-Mahia P., Prada-Rodriguez D., Fernandez-Fernandez E., *"Determination of organochlorine pesticides in horticultural samples by microwave assisted extraction followed by GC-ECD"*, International Journal Of Environmental Analytical Chemistry, 85, (2005), 325-333.
- 213 Carro N., García I., Ignacio M., Mouteira A., *"Microwave-assisted solvent extraction and gas chromatography ion trap mass spectrometry procedure for the determination of persistent organochlorine pesticides (POPs) in marine sediment"*, Anal Bioanal Chem, (2006), 901-909.
- 214 Papadakis E. N., Vryzas Z., Papadopoulou-Mourkidou E., *"Rapid method for the determination of 16 organochlorine pesticides in sesame seeds by microwave-assisted extraction and analysis of extracts by gas chromatography-mass spectrometry"*, Journal of Chromatography A, 1127, (2006), 6-11.
- 215 Herbert P., Morais S., Paíga P., Alves A., Santos L., *"Development and validation of a novel method for the analysis of chlorinated pesticides in soils using microwave-assisted extraction-headspace solid phase microextraction and gas chromatography-tandem mass spectrometry"*, Anal Bioanal Chem, 384, (2006), 810-816.
- 216 Lopez-Avila V., Richard Y., Werner F. B., *"Microwave-Assisted Extraction of Organic Compounds from Standard Reference Soils and Sediments"*, Anal. Chem., 66, (1994), 1097-1106.
- 217 Lopez-Avila V., Richard Y., Benedicto J., Ho P., Kim R., Beckert F. B., *"Extraction of Organic Pollutants from Solid Samples Using Microwave Energy"*, Anal. Chem., 67, (1995), 2096-2102.
- 218 Wang Y., Bonilla M., McNair H. M., *"Solid Phase Microextraction Associated with Microwave Assisted Extraction of Food Products"*, J. High Resol. Chromatogr., 20, (1997), 213-216.
- 219 Pylypiw H. M., Arsenault T. L., Thetford C. M., Mattina M. J. I., *"Suitability of microwave-assisted extraction for multiresidue pesticide analysis of produce"*, Journal of Agricultural and Food Chemistry, 45, (1997), 3522-3528.
- 220 Pastor A., Vázquez E., Ciscar R., de La Guardia M., *"Efficiency of the microwave-assisted extraction of hydrocarbons and pesticides from sediments"*, Analytica Chimica Acta, 344, (1997), 241-249.
- 221 Bouaid A., Martín-Esteban A., Fernández P., Cámara C., *"Microwave-assisted extraction method for the determination of atrazine and four organophosphorus pesticides in oranges by gas chromatography (GC)"*, Fresenius J. Anal Chem, 367, (2000), 291-294.

- 222 Hogendoorn E. A., Huls R., Dijkman E., Hoogerbrugge R., *"Microwave assisted solvent extraction and coupled-column reversed-phase liquid chromatography with UV detection. Use of an analytical restricted-access-medium column for the efficient multi-residue analysis of acidic pesticides in soils"*, Journal of Chromatography A, 938, (2001), 23-33.
- 223 Vryzas Z., Papadopoulou-Mourkidou E., *"Determination of triazine and chloroacetanilide herbicides in soils by microwave-assisted extraction (MAE) coupled to gas chromatographic analysis with either GC-NPD or GC-MS"*, Journal of Agricultural and Food Chemistry, 50, (2002), 5026-5033.
- 224 Patsias J., Papadakis E. N., Papadopoulou-Mourkidou E., *"Analysis of phenoxyalkanoic acid herbicides and their phenolic conversion products in soil by microwave assisted solvent extraction and subsequent analysis of extracts by on-line solid-phase extraction-liquid chromatography"*, Journal of Chromatography A, 959, (2002), 153-161.
- 225 de Sabando O. L., de Balugera Z. G., Goicolea M. A., Rodriguez E., Sampedro M. C., Barrio R. J., *"Determination of simazine and cymoxanil in soils by microwave-assisted solvent extraction and HPLC with reductive amperometrical detection"*, Chromatographia, 55, (2002), 667-671.
- 226 Japón-Luján R., Luque-Rodríguez J. M., Luque de Castro M. D., *"Multivariate optimisation of the microwave-assisted extraction of oleuropein and related biophenols from olive leaves"*, Anal Bioanal Chem, 385, (2006), 753-759.
- 227 Arrebola F. J., Vidal J. L. M., Mateu-Sánchez M., Alvarez-Castellón F. J., *"Determination of 81 multiclass pesticides in fresh foodstuffs by a single injection analysis using gas chromatography-chemical ionization and electron ionization tandem mass spectrometry"*, Analytical Chimica Acta, 484, (2003), 167-180.
- 228 Taylor M.J., Hunter K., Hunter K.B., Lindsay D., Le Bouhellec S., *"Multi-residue method for rapid screening and confirmation of pesticides in crude extracts of fruits and vegetables using isocratic liquid chromatography with electrospray tandem mass spectrometry"*, Journal of Chromatography A, 982, (2002), 3225-3236.
- 229 Latourrette Armando J., Pombeiro O., *"Técnicas E Operações Unitárias Em Química Laboratorial"*, 4ª edição, (2003), Fundação Calouste Gulbenkian.
- 230 Pombeiro A. J. L. O., *"Técnicas e operações unitárias em química laboratorial"*, 4ª edição, (2003), Fundação Calouste Gulbenkian.
- 231 Nunes G. S., Alonso R. M., Ribeiro M. L., Barceló D., *"Determination of aldicarb, aldicarb sulfoxide and aldicarb sulfone in some fruits and vegetables using high-performance liquid chromatography-atmospheric pressure chemical ionization mass spectrometry"*, Journal of Chromatography A, 888, (2000), 113-120.
- 232 Jeannot R., Sabik H., Sauvard E., Genin E., *"Application of liquid chromatography with mass spectrometry combined with photodiode array detection and tandem mass spectrometry for monitoring pesticides in surface waters"*, Journal of Chromatography A, 879, (2000), 51-71.
- 233 Ni Y., Huang C., Kokot S., *"Application of multivariate calibration and artificial neural networks to simultaneous kinetic-spectrophotometric determination of carbamate pesticides"*, Chemometrics and Intelligent Laboratory Systems, 71, (2004), 177-193.
- 234 Abad A., Moreno M. J., Montoya A., *"A monoclonal immunoassay for carbofuran and its application to the analysis of fruit juices"*, Analytica Chimica Acta, 347, (1997), 103-110.
- 235 Richter P., Sepúlveda B., Oliva R., Calderón K., Seguel R., *"Screening and determination of pesticides in soil using continuous subcritical water extraction and gas chromatography-mass spectrometry"*, Journal of Chromatography A, 994, (2003), 169-177.

- 236 Huertas-Pérez J. F., Gámiz-Gracia L., Ana M. García-Campana, González-Casado A., Vidal J. L. M., *"Chemiluminescence determination of carbofuran at trace levels in lettuce and waters by flow-injection analysis"*, Talanta 65, (2005), 980-985.
- 237 Orejuela E., Silva M., *"Determination of Protham and Chlorprotham in Postharvest-Treated Potatoes by Liquid Chromatography with Peroxyoxalate Chemiluminescence Detection"*, Analytical Letters, 37, (2004), 2531-2543.
- 238 Sanchez R., Vazquez A., Andini J. C., Villén J., *"Automated multiresidue analysis of pesticides in olive oil by on-line reversed-phase liquid chromatography-gas chromatography using the through oven transfer adsorption-desorption interface"*, Journal of Chromatography A, 1029, (2004), 167-172.
- 239 Huertas-Pérez J. F., García-Campana A. M., Gámiz-Gracia L., González-Casado A., Iruela M. Del O., *"Sensitive determination of carbaryl in vegetal food and natural waters by flow-injection analysis based on the luminol chemiluminescence reaction"*, Analytica Chimica Acta, 524 (2004), 161-166.
- 240 Demirbas A., *"Spectrophotometric determination of carbaryl pesticide and its hydrolysis product in soil and strawberry samples"*, The Science of the Total Environment, 220, (1998), 235-241.
- 241 Andersen J. H., Poulsen M. E., *"Results from the monitoring of pesticide residues in fruit and vegetables on the Danish market, 1998-99"*, Food Additives and Contaminants, 18, (2001), 906-931.
- 242 Jin S., Xu Z., Chen J., Liang X., Wu Y., Qian X., *"Determination of organophosphate and carbamate pesticides based on enzyme inhibition using a pH-sensitive fluorescence probe"*, Analytical Chimica Acta, 523, (2004), 117-123.
- 243 Jansson C., Pihlstrom T., Osterdahl Bengt-Goran, Markides K.E., *"A new multi-residue method for analysis of pesticide residues in fruit and vegetables using liquid chromatography with tandem mass spectrometric detection"*, Journal of Chromatography A, 1023, (2004), 93-104.
- 244 Rosini F. Nascentes C. C., Nóbrega J. A., *"Experimentos didáticos envolvendo radiação microondas"*, Quim. Nova, 27, (2004), 1012-1015
- 245 Sanseverino A. M., *"Microondas em síntese orgânica"*, Quim. Nova, 25, (2002), 660-667.
- 246 <http://www.epa.gov>, EPA 3546 (2000) Método de referência para a extracção de compostos semi-voláteis e não voláteis (PAH, PCB, organofosforados, organoclorados, triazinas, ureias, etc.), Environmental Protection Agency (EPA), (acedido no dia 12-03-2005).
- 247 Costa A., *"Desenvolvimento de métodos de extracção por microondas para pesticidas em solos"*, Estágio-Prodep, (2004), Instituto Superior de Engenharia do Porto.
- 248 Steinheimer T.R., *"HPLC determination of atrazine and principal degradates in agricultural soils and associated surface and ground-water"*, Journal Of Agricultural And Food Chemistry, 41, (1993), 588-595.
- 249 Molins C., Hogendoorn E.A., Heusinkveld H.A.G., Van Beuzekom A.C., Van Zoonen P., Baumann R.A., *"Effect of organic matter content in the trace analysis of triazines in various types of soils with GC-NPD"*, Chromatographia, 48 (1998), 450-456.
- 250 Laganà A., Fagoa G., Marino A., Penazzi V. M., *"Liquid chromatography mass spectrometry tandem for multiresidue determination of selected post-emergence herbicides after soil column extraction"*, Analytica Chimica Acta, 415, (2000), 41-56.
- 251 Martin C. R., *"Soil Sample and Methods of Analysis"*, Canadian Society of soil Science, (1993).

- 252 http://www.mszt.hu/isotc34/PDF/SC_03.pdf, "**Fruit and vegetable products-Determination of pH**", ISO 1842:1991, (acedido no dia 14-03-2006).
- 253 Albergaria J. T. V. S., "**Extracção de vapor para remediação de solos. Controlo dos parâmetros que limitam a descontaminação**", Tese de Mestrado, Mestrado em Engenharia do Ambiente, Faculdade de Engenharia do Porto-Universidade do Porto, (2003).
- 254 Hamilton C. S. B., Furey A., James K. J., Mañes J., Picó Y., "**Optimization of LC-MS/MS using triple quadrupole mass analyzer for the simultaneous analysis of carbosulfan and its main metabolites in oranges**", *Analytica Chimica Acta* (2006).
- 255 Jansson C., Pihlström T., Österdahl Bengt-Göran, Markides K. E., "**A new multi-residue method for analysis of pesticide residues in fruit and vegetables using liquid chromatography with tandem mass spectrometric detection**", *Journal of Chromatography A* (2004), 1023, 93-104.
- 256 Vega A. B., Frenich A. G., Vidal J. L. M., "**Monitoring of pesticides in agricultural water and soil samples from Andalusia by liquid chromatography coupled to mass spectrometry**", *Analytica Chimica Acta*, 538, (2005), 117-127.
- 257 Ito T. G. Y., Yamada S., Matsumoto H., Okab H., Nagase H., "**The high throughput analysis of N-methyl carbamate pesticides in fruits and vegetables by liquid chromatography electrospray ionization tandem mass spectrometry using a short column**", *Analytica Chimica Acta*, 555, (2006), 225-232.
- 258 Cappiello A., Famiglini G., Mangani F., Palma P., Siviero A., "**Nano-high-performance liquid chromatography-electron ionization mass spectrometry approach for environmental analysis**", *Analytica Chimica Acta*, 493, (2003), 125-136.
- 259 J. N. Miller, J. C. Miller, "**Statistical for Analytical Chemistry**", Ellis Horwood Limited, West Sussex, (1993).
- 260 Teixeira D. de S., "**Determinação de compostos orgânicos de grande valor comercial em extractos vegetais.-Estudo de novas técnicas de extracção**", Tese de Mestrado, Mestrado em Engenharia do Ambiente, Faculdade de Engenharia da Universidade do Porto, (2003).
- 261 <http://www.germisem.com/PT/SomListGr.htm>, "**Tomate**", (acedido no dia 11-07-2006).
- 262 http://www.loja.jardicentro.pt/index.php?cPath=27_150, "**Tomate**", (acedido no dia 11-07-2006).
- 263 http://www.agricultura.gov.br/images/MAPA/cultivares/snpc_06_264.htm, "**Registro Nacional de Cultivares, Inclusões**", Serviço Nacional de Protecção de Cultivares (Período: 01/01/1998 a 05/05/2006), (acedido no dia 11-07-2006).
- 264 Maia L. M. J., "**Importância dos carotenóides na saúde e qualidade de vida**", Seminário, Mestrado em Controlo de Qualidade, Faculdade de Farmácia da Universidade do Porto, (2005).
- 265 da Silva F., de C. Ferreira V., de Sousa M. C. B. V., "**Adaptação de forno de microondas doméstico para realização de reações de transesterificação sob refluxo e catálise por argilas**", *Quim. Nova*, 29, (2006).
- 266 Romero A. E., Olives A.I. Martín L., Martín M.A. Del Castillo B., Agnese A.M. Ortega M.G., Núñez-Montoya S. Cabrera J.L., "**Estudio del efecto solvatochrómico en derivados fenólicos naturales, Study of the solvatochromic effect on natural phenolic compounds**", *Ars Pharmaceutica*, 43, (2002), 57-71.
- 267 Skoog, Holler, Nieman, "**Princípios de Análise Instrumental**", 5ª edição, Bookman.

- 268** Proteste, "*Azeitonas embaladas e a granel, salgadas e mal conservadas. Tomate, automóveis, pilhas recarregáveis e outros testes*" 271, (Julho/Agosto de 2006).

Anexo I - Formulações e substâncias activas aplicadas no combate das infestações na cultura do tomateiro

Tab. I-1: Formulações, substâncias activas aplicadas no combate de doenças, pragas e vírus na cultura do tomateiro [38, 47, 48].

| Infestações | Formulação | Substância activa | Família do pesticida | Acção |
|-------------------------|----------------|---------------------------|-------------------------------|-----------------------|
| Ácaros do tomateiro | Kiros Pronto | Bifentrina | Piretróide | Acaricida |
| | Laidan | Diazinão | Organofosforado | Insecticida |
| | Kelthane Mf | Dicofol | Organoclorado | Acaricida |
| | Thiodan Cs | Endossulfão | Ciclodieno organoclorado | Insecticida |
| | Fluidosoufre | Enxofre | Inorgânico | Insecticida |
| | Fosalona 30 Wp | Fosalona | Organofosforado | Insecticida |
| Afídeos do tomateiro | Confidor O-Teq | Imidaclopride | Cloronicotinilo | Insecticida |
| | Confidor | Imidaclopride | Cloronicotinilo | Insecticida |
| | Gazelle | Acetamiprida | Neonicotinóide | Insecticida |
| | Aficion | Ciflutrina+imidaclopride | Piretróide e cloronicotinilo | Insecticida |
| | Laidan | Diazinão | Organofosforado | Insecticida |
| | Thiodan Cs | Endossulfão | Ciclodieno organoclorado | Insecticida |
| | Fosalona 30 Wp | Fosalona | Organofosforado | Insecticida |
| | Provado Ae | Imidaclopride | Cloronicotinilo | Insecticida |
| | Malathane | Malatião | Organofosforado | Insecticida |
| | Lannate L | Metomil | Carbamato de oxima | Insecticida |
| | Plenum 50 Wg | Pimetrozina | Azometino | Insecticida |
| | Actara 25 Wg | Tiametoxame | Neonicotinóide | Insecticida |
| | Aficion® | Ciflutrina +imidaclopride | Piretróide+cloronicotinil | Insecticida |
| | Thiodan® | Endossulfão | Organoclorado | Insecticida |
| | Corsário | Imidaclopride | Cloronicotinilo | Insecticida |
| | Lannate® “L” | Metomil | Carbonato de oxima | Insecticida |
| Alfinete do tomateiro | Curaterr® | Carbofurão | Carbamato | Insecticida |
| | Pyrinex® 5 G | Clorpirifos | Organofosforado | Insecticida |
| Alternaria do tomateiro | Ortiva | Azoxistrobina | Estrobilurina | Fungicida |
| | Folpec 50 Azul | Folpete | N-tiotrihalometilo | Fungicida |
| | Merpan ”83” | Captana | N – tiotrihalometilo | Fungicida |
| | Mancozan | Mancozebe | Ditiocarbamato | Fungicida |
| | Pugil La | Clortalonil | Derivado ftálico | Fungicida |
| | Score 10 Wg | Difenoconazole | Azole | Fungicida |
| | Polyram Df | Metirame | Alquilenobis (ditiocarbamato) | Fungicida |
| Antracnose do tomateiro | Folpec 50 Azul | Folpete | N-tiotrihalometilo | Fungicida |
| Bacteriose do tomateiro | Kados® | Cobre (hidróxido) | Inorgânico | Fungicida/Bactericida |
| | Gafex | Cobre (oxicloreto) | Inorgânico | Fungicida |

Continua

| Infestações | Formulação | Substância activa | Família do pesticida | Ação |
|----------------------------|-----------------|------------------------------------|---|-----------------------|
| Cladosporiose do tomateiro | Folpec 50 Azul | Folpete | N-tiotrihalometilo | Fungicida |
| | Mancozebe Sapec | Mancozebe | Ditiocarbamato | Fungicida |
| | Merpan “83” | Captana | N-tiotrihalometilo | Fungicida |
| Lagarta do tomateiro | Aficion® | Ciflutrina Imidaclopride | Piretróide Cloronicotinil | Insecticida |
| | Thiodan® | Endossulfão | Organoclorado | Insecticida |
| | Baythroid® | Ciflutrina | Piretróide | Insecticida |
| | Steward® | Indoxacarbe | Oxadiazina | Insecticida |
| | Zipper | Cipermetrina | Piretróide | Insecticida |
| | Lannate® L | Metomil | Carbonato de oxima | Insecticida |
| | Pyrinex® 48 Ec | Clorpirifos | Organofosforado | Insecticida |
| | Decis | Deltrametrina | Piretróide | Insecticida |
| | Decisprime | Clorpirifos-metilo Deltametrina | Organofosforado Piretróide | Insecticida |
| | Dipterex 80 | Triclorfão | Organofosforado | Insecticida |
| | Fastac 30 | Alfa-cipermetrina | Piretróide | Insecticida |
| | Cotnion M 25 Wp | Azinfos-metilo | Organofosforado | Insecticida |
| | Bulldock | Beta-ciflutrina | Piretróide | Insecticida |
| | Permutex | Carbaril | Carbamato | Insecticida |
| | Baythroid | Ciflutrina | Piretróide | Insecticida |
| | Aficion | Ciflutrina Imidaclopride | Piretróide Cloronicotinilo | Insecticida |
| | K-Obiol Pp | Deltametrina | Piretróide | Insecticida |
| | Laidan | Diazinão | Organofosforado | Insecticida |
| | Thiodan Cs | Endossulfão | Ciclodieno organoclorado | Insecticida |
| | Sumi Alpha | Esfenvalerato | Piretróide | Insecticida |
| | Fosalona 30 Wp | Fosalona | Organofosforado | Insecticida |
| | Steward | Indoxacarbe | Oxadiazina | Insecticida |
| | Karate+ | Lambda-cialotrin | Piretróide | Insecticida |
| | Match 050 Ec | Lufenurão | Benzoilureia | Insecticida |
| | Malathane | Malatião | Organofosforado | Insecticida |
| | Lannate L | Metomil | Carbamato de oxima | Insecticida |
| | Dipterex 80 | Triclorfão | Organofosforado | Insecticida |
| | | | | |
| Larva mineira do tomateiro | Boreal® | Abamectina | Avermectina | Insecticida |
| | Align | Azadiractina | Limonoide | Insecticida |
| | Trigard 75 Wp | Ciromazina | Triazina | Insecticida |
| | | | | |
| Míldio do tomateiro | Ortiva | Azoxistrobina | Estrobilurina | Fungicida |
| | Treitol M | Benalaxil Mancozebe | Fenilamida (acilalanina) Alquilenobis (ditiocarbamato) | Fungicida |
| | Torero | Cimoxanil Mancozebe | Acetamida e alquilenobis (ditiocarbamato) | Fungicida |
| | Vitipeck® Azul | Cimoxanil Folpete | Acetamida e N-tiotrihalometilo | Fungicida |
| | Kados® | Cobre (hidróxido) | Inorgânico | Fungicida/bactericida |

Continua

| Infestações | Formulação | Substância activa | Família do pesticida | Ação |
|----------------------------|-----------------------------------|-----------------------------------|--|-------------|
| Míldio do tomateiro | Eky® Trio Azul | Cimoxanil Folpete Metalaxil | Acetamida N-tiotrihalometilo Fenilamida | Fungicida |
| | Folpec 50 Azul | Folpete | N-tiotrihalometilo | Fungicida |
| | Merpan 83 | Captana | Ftalimida | Fungicida |
| | Mancozan | Mancozebe | Ditiocarbamato | Fungicida |
| | Euparene Multi | Tolilfluana | Sulfamida | Fungicida |
| | Milraz | Cimoxanil Propinebe | Acetamida Ditiocarbamato | Fungicida |
| | Milraz Cobre | Cimoxanil Propinebe | Acetamida Ditiocarbamato | Fungicida |
| | Antracol | Propinebe | Ditiocarbamato | Fungicida |
| | Cuprosan P | Propinebe. | Ditiocarbamato | Fungicida |
| | Miltrat | Cimoxanil Folpete Mancozebe | Acetamida Ftalimida Ditiocarbamato | Fungicida |
| | Calda Bordalesa Quimigal | Mistura bordalesa | Inorgânico | |
| | Ranman | Ciazofamida | Cianoimidazol | Fungicida |
| | Acetamida e N-Tiotrihalometilo | Cimoxanil Folpete | Acetamida N-tiotrihalometilo | Fungicida |
| | Miltrat | Cimoxanil Folpete Mancozebe | Acetamida N-tiotrihalometilo Alquilenobis (ditiocarbamato) | Fungicida |
| | Duett-M | Cimoxanil Mancozebe | Acetamida Ditiocarbamato | Fungicida |
| | Cimorame | Cimoxanil Metirame | Acetamida Alquilenobis (ditiocarbamato) | Fungicida |
| | Curzate C | Cimoxanil Cobre (oxicloreto) | Acetamida Inorgânico | Fungicida |
| | Pugil La | Clortalonil | Derivado ftálico | Fungicida |
| | Kocide Df | Cobre (hidróxido) | Inorgânico | Fungicida |
| | Sulfato de Cobre Cristal Sapac | Cobre (sulfato) | Inorgânico | Fungicida |
| | Para-At | Dimetomorfe Mancozebe | Morfolina Alquilenobis (ditiocarbamato) | Fungicida |
| | Folpan 500 Sc | Folpete | N-tiotrihalometilo | Fungicida |
| | Penncozeb Dg | Mancozebe | Alquilenobis (ditiocarbamato) | Fungicida |
| | Ridomil Gold | Mancozebe Metalaxil | Alquilenobis (ditiocarbamato) Fenilamida (tipo acilalanina) | Fungicida |
| | Polyram Df | Metirame | Alquilenobis (ditiocarbamato) | Fungicida |
| | Antracol | Propinebe | Alquilenobis (ditiocarbamato) | Fungicida |
| | Euparene Multi | Tolilfluana | Sulfamida | Fungicida |
| | | | | |
| Murchidão das plântulas | Previcur N | Propamocarbe (hidrocloro) | Carbamato | Fungicida |
| | | | | |
| Mosca Branca | Cartap, Thiobel | Cartape | 2-dimetilaminopropano-1,3- -ditio | Insecticida |
| | Orthene 750br | Acefate | Fosforado | Insecticida |
| | Tiomat 400ce | Dimetoate | Fosforado | Insecticida |

Continua

| Infestações | Formulação | Substância activa | Família do pesticida | Ação |
|-------------------------|--------------------------------|--|--------------------------------------|-------------|
| Mosca Branca | Hamidop 600 | Metamidofos | Fosforado | Insecticida |
| | Hostathion 400 Deltaphos Ce | Triazofos Triazofos Deltametrina | Fosforado Fosforado Piretróide | Insecticida |
| | Bulldock 125sc | Betaciflutrina | Piretróide | Insecticida |
| | Sumidan 25ce | Esfenvalerato | Piretróide | Insecticida |
| | Danimen 300ce | Fenpropatrina | Piretróide | Insecticida |
| | Sauros Ps | Acetamiprida | Neonicotinóide | Insecticida |
| | Confidor | Imidacloprida | Neonicotinóide | Insecticida |
| | Thiamethoxan 250wg | Tiametoxana | Neonicotinóide | Insecticida |
| | Calypso | Thiacloprida | Neonicotinóide | Insecticida |
| | Applaud | Buprofezina | Tiadiazina | Insecticida |
| | Thiodan® | Endossulfão | Organoclorado | Insecticida |
| | Zipper | Cipermetrina | Piretróide | Insecticida |
| | Corsário | Imidaclopride | Cloronicotínio | Insecticida |
| | Decis | Deltrametrina | Piretróide | Insecticida |
| | Gazelle | Acetamiprida | Neonicotinóide | Insecticida |
| | Fastac 30 | Alfa-cipermetrina | Piretróide | Insecticida |
| | Align | Azadiractina | Limonoide | Insecticida |
| | Applaud | Buprofezina | Tiadiazina | Insecticida |
| | Karate+ | Lambda-cialotrina | Piretróide | Insecticida |
| | Plenum 50 Wg | Pimetrozina | Azometino | Insecticida |
| | Actara 25 Wg | Tiametoxame | Neonicotinóide | Insecticida |
| Nóctuas do tomateiro | Thiodan® | Endossulfão | Organoclorado | Insecticida |
| | Pyrinex® 5 G | Clorpirifos | Organofosforado | Insecticida |
| | Align | Azadiractina | Limonoide | Insecticida |
| | Permutex | Carbaril | Carbamato | Insecticida |
| | Thiodan Cs | Endossulfão | Ciclodieno organoclorado | Insecticida |
| | Fosalona 30 Wp | Fosalona | Organofosforado | Insecticida |
| | Karate+ | Lambda-cialotrina | Piretróide | Insecticida |
| Oídio do tomateiro | Stulln Wg Advance | Enxofre | Inorgânico | Fungicida |
| | Crotopec® | Dinocape | Derivado dinitrofenólico | Fungicida |
| | Dinogil | Dinocape | Derivado dinitrofenólico | Fungicida |
| | Quadris | Azoxistrobina | Estrobilurina análoga | Fungicida |
| Podridão cinzenta | Euparene Multi | Tolilfluanaida | Sulfamida | Fungicida |
| | Teldor | Fenehexamida | Hidroxianilidas | Fungicida |
| | Switch | Carbendazime | Benzimidazole | Fungicida |
| | Sumico | Carbendazime Dietofencarbe | Benzimidazole Carbamato de fenil | Fungicida |
| | Switch 62.5 Wg | Ciprodinil Fludioxonil | Anilinopirimidina Cianopirrole | Fungicida |
| | Carboxamida | Iprodiona | Carboxamida | Fungicida |
| | Rovral | Procimidona | Carboxamida | Fungicida |
| | Scala | Pirimetanil | Anilinopirimidina | Fungicida |

Continua

| Infestações | Formulação | Substância activa | Família do pesticida | Acção |
|-------------------------|-----------------|-------------------|----------------------|-------------|
| Tripes do tomateiro | Master 50 | Metiocarbe | Carbamato | Insecticida |
| | Rufast Avance | Acrinatrina | Piretróide | Insecticida |
| | Fosalona 30 Wp | Fosalona | Organofosforado | Insecticida |
| | Match 050 Ec | Lufenurão | Benzoilureia | Insecticida |
| Septoriose do tomateiro | Mancozebe Sapec | Mancozebe | Ditiocarbamato | Fungicida |
| | Mancozan | Mancozebe | Ditiocarbamato | Fungicida |
| | Merpan “83” | Captana | N-tiotrihalometilo | Fungicida |

Anexo II - Quantitativos de: fungicidas, herbicidas, insecticidas, acaricidas, reguladores de crescimento de plantas e outros produtos fitofarmacêuticos vendidos em Portugal em 2004

Fungicidas

Na tab. II-1, apresentam-se os quantitativos de fungicidas vendidos, repartidos por grupos químicos.

Tab. II-1: Vendas de fungicidas por grupo químico (extraído de ^[115]).

| Grupo químico | Quantitativo vendido (kg) |
|--------------------|---------------------------|
| Benzimidazóis | 19.530 |
| Diazóis e triazóis | 27.067 |
| Ditiocarbamatos | 1.079.858 |
| Inorgânicos | 1.062.4182 |
| Cúpricos | 769.218 |
| Enxofre | 9.854.964 |
| Outros fungicidas | 708.117 |
| | |
| Total | 12.458.754 |

O grupo "Outros fungicidas" inclui entre outros, o grupo das morfollinas, dado que este passou a ser constituído somente por dimetomorfe, substância activa comercializada apenas por duas empresas^[115].

O enxofre contribuiu com 79,1 % do total de fungicidas vendido, seguido do grupo dos ditiocarbamatos com 8,60%. O quantitativo total de fungicidas vendidos, retirando o enxofre, corresponde a 2.603.790 kg^[115].

Na tab. II-2, apresenta-se o quantitativo de vendas de fungicidas por substância activa (quando comercializada por três ou mais empresas) e as respectivas alterações, relativas a 2003. O uso de benomil foi cancelado a partir de 26 de Maio de 2004.

Tab. II-2: Vendas de fungicidas por substância activa e as respectivas alterações, relativas a 2003 (extraído de ^[115]).

| Substância activa | Quantitativo vendido (kg) | Alteração a 2003 (kg) |
|---------------------------|---------------------------|-----------------------|
| Benomil | 5.296 | -10.792 |
| Captana | 93.590 | -20.058 |
| Carbendazime | 8.195 | +1.331 |
| Cimoxanil | 58.122 | -2.594 |
| Clortalonil | 6.606 | -563 |
| Cobre (oxicloreto) | 250.264 | -116.789 |
| Cobre (sulfato) | 322.889 | -56.684 |
| Dinocape | 16.481 | -810 |
| Dodina | 3.782 | -3.393 |
| Enxofre | 9.854.964 | -377.818 |
| Fenarimol | 1.279 | -171 |
| Folpete | 278.788 | +27.875 |
| Fosetil-alumínio | 156.961 | -1.078 |
| Mancozebe | 625.249 | +24.000 |
| Metalaxil | 7.693 | +2.157 |
| Propamocarbe (hidrocloro) | 9.239 | +3.741 |
| Tirame | 93.334 | +3.764 |
| Zirame | 6.699 | +1.683 |
| Outros | 659.323 | +29.562 |

Enxofre, mancozebe, propinebe (comercializado por apenas uma empresa), sulfato de cobre, folpete e oxicloreto de cobre foram por ordem decrescente as substâncias activas, com acção fungicida, mais vendidas^[115].

Herbicidas

O quantitativo de vendas de herbicidas, distribuído por grupos químicos, encontra-se na tab. II-3. O molinato e EPTC, que estavam classificados no grupo dos carbamatos, passaram a ficar incluídos no grupo "Outros herbicidas". O pesticida triclopir, que no ano anterior estava incluído no grupo fenoxi-fitohormonas passou, de acordo com a nova classificação, a estar incluído no grupo "Outros herbicidas"^[115].

Tab. II-3: Vendas de herbicidas por grupo químico^[115].

| Grupo químico | Quantitativo vendido (kg) |
|--|---------------------------|
| Amidas e anilidas | 6.456 |
| Carbamatos | 3.229 |
| Fenoxi-fitohormonas | 94.327 |
| Triazinas | 317.934 |
| Dinitroanilinas | 32.587 |
| <u>Ureias, sulfonilureias e uracilos</u> | 115.367 |
| Outros herbicidas | 1.535.008 |
| | |
| Total | 2.104.908 |

Na tab. II-4, encontram-se individualizados os quantitativos vendidos, expressos em substâncias activas e respectivas alterações relativas a 2003.

Tab. II-4: Vendas de herbicidas expressos em substâncias activas e respectivas alterações relativas a 2003 (extraído de ^[115]).

| Substância activa | Quantitativo vendido (kg) | Alteração a 2003 (kg) |
|-------------------|------------------------------|--------------------------|
| 2,4-D | 13.886 | +3.191 |
| Alacloro | 206.487 | -37.040 |
| Amitrol | 35.835 | -9.225 |
| Atrazina | 170.051 | -10.131 |
| Bromoxinil | 5.378 | +1.660 |
| Cloridazão | 4.369 | +2.210 |
| Clortolurão | 30.228 | +16.843 |
| Diurão | 35.391 | -8.835 |
| <u>EPTC</u> | 34.972 | -11.272 |
| Glifosato | 843.858 | -188.047 |
| Isoproturão | 3.056 | -19.017 |
| <u>Linurão</u> | 44.388 | +13.250 |
| MCPA | 58.497 | +18.592 |
| Metamitrão | 11.315 | +3.408 |
| Metribuzina | 10.100 | +1.747 |
| Molinato | 36.902 | -28.959 |
| Oxifluorfena | 3.311 | +1.212 |
| Paraquato | 102.321 | -7.438 |
| Propanil | 91.071 | +3.787 |
| Simazina | 86.581 | -24.324 |
| Triclopir | 20.812 | +7.516 |
| Trifluralina | 3.597 | -1.574 |
| Outros | 252.502 | + 35 |

O Glifosato foi o herbicida mais vendido, registando no entanto um decréscimo de vendas de 22,3 % relativo ao ano anterior. Glifosato, alacloro, atrazina, paraquato e propanil foram, por ordem decrescente, as cinco substâncias activas mais vendidas^[115].

Insecticidas e acaricidas

Na tab. II-5, estão discriminadas, por grupos, as vendas de insecticidas e acaricidas. Como foi referido, o óleo mineral, em virtude de ter diferentes funções foi incluído no grupo "Outros pesticidas". O grupo dos carbamatos passou a incluir o metiocarbe que estava incluído nos moluscicidas. O quantitativo de *Bacillus thuringiensis* (produtos biológicos), encontra-se expresso em quilograma de produto formulado^[115].

Tab. AII-5: Venda de insecticidas e acaricidas por grupo químico^[115].

| Grupo químico | Quantitativo vendido (kg) |
|---------------------|------------------------------|
| <u>Carbamatos</u> | 37.645 |
| Organoclorados | 51.461 |
| Organofosforados | 281.170 |
| Piretróides | 5.558 |
| Produtos biológicos | 1.122 |
| Outros insecticidas | 32.040 |
| | |
| Total | 408.996 |

O grupo dos organofosforados correspondeu a 68,7 %, os organoclorados a cerca de 12,5 % e os carbamatos a 9,20 %. O grupo dos piretróides representa apenas 1,35 % do total das vendas de insecticidas/acaricidas. As feromonas, com 169 kg vendidos, estão incluídas em "Outros insecticidas"^[115].

Na tab. II-6, estão discriminados os quantitativos vendidos, comercializados por três ou mais empresas, e as respectivas alterações em relação a 2003. O uso de acefato foi cancelado a partir de 25 de Setembro de 2004^[115].

Tab. II-6: Vendas de insecticidas e acaricidas, comercializados por três ou mais empresas, e as respectivas alterações em relação a 2003 (extraído de ^[115]).

| Substância activa | Quantitativo vendido (kg) | Alteração a 2003 (kg) |
|-------------------------------|------------------------------|--------------------------|
| Abamectina | 211 | +69 |
| Acefato | 8.244 | -861 |
| Afla-cipermetrina | 347 | -339 |
| Amitraze | 5.076 | +1.603 |
| Azinfos-metilo | 3.317 | +2.264 |
| <i>Bacillus thuringiensis</i> | 1.122 | -114 |
| <u>Carbaril</u> | 6.309 | +1.088 |
| <u>Carbofurão</u> | 9.973 | -1.375 |
| Cihexaestanho | 687 | -2.392 |
| Cipermetrina | 986 | -1.834 |
| Clorpirifos | 88.246 | -8.238 |
| Deltametrina | 1.596 | +288 |
| Diazinão | 4.907 | -2.350 |
| Dicofol | 1.152 | -3.088 |
| Dimetoato | 77.095 | -18.787 |
| Endossulfão | 50.291 | +9.221 |
| Fosmete | 32.183 | +141 |
| Malatião | 8.280 | -491 |
| Metidatião | 13.804 | -51 |
| Metomil | 5.717 | -240 |
| Pirimicarbe | 2.832 | +117 |
| Tetradifão | 18 | -1.486 |
| Outros | 86.603 | -3.316 |

O clorpirifos foi a substância activa mais vendida, seguida de dimetoato, embora ambas tivessem registado decréscimos de vendas. O Endossulfão foi a terceira substância activa mais vendida, e registou acréscimos de vendas de 22,5 % relativamente a 2003^[115].

Reguladores de crescimento de plantas

Neste grupo de produtos fitofarmacêuticos incluem-se os reguladores de crescimento propriamente ditos, as substâncias com acção anti-abrolhante e produtos de condicionamento fisiológico das culturas com outros modos de acção na fisiologia dos vegetais^[115].

Na tab II-7, encontram-se os quantitativos vendidos distribuídos pelos diferentes grupos.

Tab. II-7: Vendas de reguladores de crescimento e anti-abrolhantes (extraído de ^[115]).

| Tipo de acção | Quantitativo vendido (kg) |
|----------------------------|---------------------------|
| Reguladores de crescimento | 15.306 |
| Anti-abrolhantes | 3.149 |
| | |
| Total | 18.455 |

Outros produtos fitofarmacêuticos

Este grupo engloba os óleos minerais e vegetais, os adjuvantes, os rodenticidas, os fumigantes de solo e os moluscicidas. Estes produtos totalizaram 1.931.217 kg ^[115], distribuídos de acordo com a tab II-8.

Tab. AII-8: Vendas de outros produtos fitofarmacêuticos^[115].

| Tipo de acção | Quantitativo vendido (kg) |
|--------------------|---------------------------|
| Rodenticidas | 24 |
| Óleo mineral | 599.801 |
| Fumigantes de solo | 1.325.376 |
| Outros | 25.615 |
| | |
| Total | 1.950.816 |

As vendas de óleo mineral cresceram 3 % e os fumigantes de solo 103,5% (comparando os mesmos produtos)^[115].

Venda de produtos fitofarmacêuticos em 2004

Na tab. II-9 resume-se o total de vendas de produtos fitofarmacêuticos, seguindo o critério de classificação adoptado.

Tab. II-9: Venda de produtos fitofarmacêuticos em 2004 (extraído de ^[115]).

| | kg |
|---|-------------------|
| TOTAL | 16.941.929 |
| | |
| Fungicidas | 12.458.754 |
| Inorgânicos | 10.624.182 |
| Cúpricos | 769.218 |
| Enxofre | 9.854.964 |
| Benzimidazóis | 19.530 |
| Diazóis e triazóis | 27.067 |
| Diticarbamatos | 1.079.858 |
| Outros | 708.117 |
| | |
| Herbicidas | 2.104.908 |
| Amidas | 6.456 |
| <u>Carbamatos</u> | 3.229 |
| Derivados da ureia, uracilos e sulfonilureias | 115.367 |
| Dinitroalaninas | 32.587 |
| Fenoxi-fitohormonas | 94.327 |
| Triazinas | 317.934 |
| Outros | 1535.008 |
| | |
| Insecticidas e acaricidas | 408.996 |
| <u>Carbamatos</u> | 37.645 |
| Organoclorados | 51.461 |
| Organofosforados | 281.170 |
| Piretróides | 5.558 |
| Produtos de origem vegetal e biológicos | 1.122 |
| Outros | 32.040 |
| | |
| Reguladores de crescimento | 18.455 |
| Anti-abrolhantes | 3.149 |
| Reguladores de crescimento | 15.306 |
| | |
| Rodenticidas | 24 |
| Óleo mineral | 599.801 |
| Fumigantes de solo | 1.325.376 |
| Outros produtos | 25.615 |

Anexo III - Valores de LMR e as respectivas legislações aplicadas às substâncias não incluídas na LPC

Portaria n.º 49/97 de 18-01-1997

Tab. III-1: Lista de limites máximos de resíduos (LMR) em cereais, transcritos da Portaria n.º 49/97 de 18-01-1997.

| Substância activa | Expresso | LMR (mg/kg) |
|---------------------|--|-------------|
| <u>Butilato</u> | Butilato | 0,05 |
| <u>EPTC</u> | EPTC | 0,05 |
| <u>Monolinurão</u> | Soma de monolinurão e dos produtos de degradação | 0,05 |
| <u>Metobromurão</u> | Soma de metobromurão e dos produtos de degradação contendo a fracção 4-bromoanilina, expresso em 4-bromoanilina | 0,10 Milho |
| <u>Linurão</u> | Linurão | 0,20 |

Portaria n.º 199/71 de 17-04-1971

Todos os produtos fitofarmacêuticos com base em: linurão, monolinurão e metobromurão em formulações de pós molháveis com teores de substância activa 50 % são classificados na classe toxicológica III.

Directiva da Comissão n.º 2000/82/CE de 20-12-2000

Foram adoptadas decisões da Comissão com vista à não inclusão de substâncias activas no anexo I da Directiva 91/414/CEE do Conselho, de 15 de Julho de 1991, relativa à colocação dos produtos fitofarmacêuticos no mercado, com a última redacção que lhe foi dada pela Directiva 2000/80/CE da Comissão, em relação ao azinfos-etilo [Decisão 95/276/CE da Comissão], profame [Decisão 96/586/CE da Comissão(10)], ao dinoterbe [Decisão 98/269/CE da Comissão], ao DNOC [Decisão 1999/164/CE da Comissão], ao pirazofos [Decisão 2000/233/CE da Comissão], ao monolinurão [Decisão 2000/234/CE da Comissão], ao clozolinato [Decisão 2000/626/CE da Comissão] e ao tecnazeno [Decisão 2000/725/CE da Comissão]. As referidas decisões estabeleceram que a utilização de produtos fitofarmacêuticos que contenham estas substâncias activas deixa de poder ser autorizada na Comunidade. É, pois, necessário inserir todos os resíduos de pesticidas resultantes da utilização destes produtos fitofarmacêuticos nos anexos das Directivas 86/362/CEE, 86/363/CEE e 90/642/CEE, para que a sua utilização possa ser convenientemente vigiada e controlada e de modo a proteger os consumidores. Para permitir a satisfação de expectativas legítimas no referente à utilização das existências de pesticidas, as decisões de não inclusão da Comissão admitem períodos de eliminação progressiva e é conveniente que os teores

máximos de resíduos estabelecidos com base no facto de a substância correspondente não ser autorizada na Comunidade não sejam aplicados enquanto não terminar o período de eliminação progressiva da substância em causa.

Os teores máximos de resíduos comunitários e os teores recomendados pelo Codex Alimentarius são fixados e avaliados por processos similares. O Codex Alimentarius não estabelece teores máximos de resíduos para o azinfos-etilo, o dinoterbe, o DNOC, o monolinurão, o profame e o clozolinato. O Codex Alimentarius estabelece alguns teores máximos de resíduos para o pirazofos e o tecnazeno, que foram tidos em conta ao estabelecerem-se os teores máximos de resíduos fixados na presente directiva. A Comunidade notificou o projecto de directiva da Comissão à Organização Mundial do Comércio e os comentários recebidos foram ponderados na finalização da directiva. Tendo por base dados aceitáveis e avaliações aceitáveis da ingestão pelos consumidores que venham a ser apresentados, a Comunidade Europeia examinará a possibilidade de serem fixadas tolerâncias de importação, no referente a teores máximos de resíduos, para combinações cultura/pesticida específicas.

Os Estados-Membros aplicarão as presentes medidas ao DNOC, pirazofos e monolinurão a partir de 1 de Julho de 2002.

Decreto-Lei n.º 215/2001 de 02-08-2001

O valor do LMR correspondente à substância activa carbofurão permitido em arroz é substituído por 0,1 mg/kg. O valor do LMR correspondente à substância activa monolinurão permitido em feijões com casca e em batata é substituído por 0,05 mg/kg, com efeitos a partir de 1 de Julho de 2002.

Decreto-Lei n.º 128/2005 de 09-08-2005

O presente diploma transpõe para a ordem jurídica interna as Directivas n.º 2004/20/CE, de 2 de Março, 2004/58/CE, de 23 de Abril, 2004/99/CE, de 1 de Outubro, 2005/2/CE, de 19 de Janeiro, e 2005/3/CE, de 19 de Janeiro, da Comissão, que alteram a Directiva n.º 91/414/CEE, do Conselho, de 15 de Julho, com o objectivo de incluir na Lista Positiva Comunitária (LPC) as substâncias activas clorprofame, alfa-cipermetrina, benalaxil, bromoxinil, desmedifame, ioxinil, fenemedifame, acetamiprida, tiaclopride, *Ampelomyces quisqualis*, *Gliocladium catenulatum*, imazosulfurão, laminarina, metoxifenoza e S-metolaclozolo.

Revisão de autorizações com base na substância activa clorprofame

- 1-**As autorizações de colocação no mercado concedidas para produtos fitofarmacêuticos contendo a substância activa clorprofame são revistas em conformidade com as disposições do Decreto-Lei n.º 94/98, de 15 de Abril, tendo em consideração as respectivas características e condições de inclusão no seu anexo I, até 31 de Julho de 2005.
- 2-**A revisão referida no número anterior, no que respeita à avaliação e decisão à luz dos princípios uniformes enunciados em anexo do Decreto-Lei n.º 94/98, de 15 de Abril, aditado pelo Decreto-Lei n.º 341/98, de 4 de Novembro, e com base num processo que satisfaça as exigências do anexo III do Decreto-Lei n.º 94/98, de 15 de Abril, deve realizar-se até 31 de Janeiro de 2009 no caso de produtos fitofarmacêuticos que contenham clorprofame como única substância activa ou em mistura com outra substância activa incluída até 31 de Janeiro de 2005 na LPC.

Portaria n.º 491/90 de 30-06-1990

Tab. III-2: Lista de limites máximos de resíduos em batata, transcritos da Portaria n.º 491/90 de 30-06-1990.

| Substância activa | Expresso | LMR (mg/kg) |
|---------------------|---|-------------|
| <u>Carbaril</u> | Carbaril | 0,1 |
| <u>Carbofurão</u> | Soma de carbofurão e 3-hidroxi carbofurão expresso em carbofurão. | 0,5 |
| <u>EPTC</u> | EPTC | 0,1 |
| <u>Monolinurão</u> | Monolinurão expresso em 4-cloroanilina. | 0,1 |
| <u>Metobromurão</u> | Metobromurão | 0,05 |
| <u>Linurão</u> | Linurão expresso em 3,4-dicloroanilina. | 0,05 |

Anexo IV - Técnicas de extracção utilizadas na extracção de pesticidas da família dos carbamatos e das ureias nas matrizes de vegetais, frutos e solos

Tab. IV-1: Extracção de pesticidas nas diferentes matrizes utilizando como processo de extracção a agitação mecânica.

| Técnica de extracção | Pesticidas/Família | Matriz | Procedimento | Solvente | Etapas de clean-up | Ref. |
|----------------------|---|--|---|--|--|-------|
| Agitação mecânica | <u>Linurão</u> <u>Metobromurão</u> <u>Monolinurão</u> <u>Carbofurão</u> <u>Carbaril</u> <u>Clorprofame</u> <u>EPTC</u> <u>butilato</u> | -Couves -Ervilhas -Laranjas -Tomate | 60 g de amostra homogeneizada é extraída com 120 mL de acetato de etilo na presença de 15 g de hidrogenocarbonato de sódio e 60 g de sulfato de sódio anidro. Homogeneizar. | -Acetato de etilo | Foram testadas três colunas: -Coluna cromatográfica de gel SX-3. -Mistura de adsorventes. -Cartuchos de sílica. | [164] |
| | <u>Carbofurão</u> e os produtos de degradação | -Laranjas | 200 g de amostra são triturados. Retirar uma porção de 5 g e adicionar 25 ml de diclorometano e 5 g de sulfato de sódio anidro. Agitar durante 2 minutos. | -Diclorometano | | [164] |
| | <u>Metobromurão</u> | -Solos | 10 g de solo é homogeneizado com 20 ml de metanol. | -Metanol | | [167] |
| | <u>Carbaril</u> <u>Carbofurão</u> | -Batatas -Cenouras -Pimentos | 5 g de amostra são extraídas com metanol. Após homogeneização é adicionado cloreto de sódio, acetonitrilo e éter de petróleo. | -Metanol, -Acetonitrilo, -Éter de petróleo | Coluna de Celite silanizada. | [163] |
| | <u>Carbofurão</u> | -Pera -Funcho -Cebola -Melão -Uvas -Alface -Laranjas | 50 g de amostra triturada foram homogeneizadas com 150 mL de acetato de etilo. Posteriormente a solução foi colocada no ultra-sons durante 15 minutos. | -Acetato de etilo | Cromatografia de permeação de gel. | [168] |
| | <u>Carbaril</u> | -Pepino | 5 g de amostra são misturadas com 35 ml de acetato de etilo e 5 g de sulfato de sódio anidro. | -Acetato de etilo | Foram testados vários adsorventes: alumina, sílica, SAX e C-18 | [169] |
| | <u>Carbaril</u> | -Espinafres -Batata -Tomate | 5 g de amostra triturada é homogeneizada com 20 g de sulfato de sódio anidro e 50 mL de acetato de etilo. | -Acetato de etilo | | [165] |
| | <u>Carbaril</u> | -Laranja -Uvas | 5 g de amostra são homogeneizadas com 5 g de sulfato de sódio anidro e 50 mL de hexano. | -Hexano | | [170] |
| | <u>Clorprofame</u> | -Solos | 10 g de amostra são homogeneizadas 20 mL de acetona. | -Acetona | | [171] |
| | <u>Carbaril</u> <u>Linurão</u> <u>Metobromurão</u> | -Ervilhas -Batatas -Milho | 10 g de amostra triturada é homogeneizada durante 10 minutos com 40 mL de acetonitrilo. | -Acetonitrilo | | [162] |
| | <u>Linurão</u> <u>Metobromurão</u> <u>Monolinurão</u> | -Solos | 100 g de solo são misturados com 140 mL de metanol, diclorometano, etanol e acetona. | -Metanol, -Diclorometano, -Etanol, -Acetona | Cartucho de sílica gel. | [172] |
| | <u>Linurão</u> | -Cenouras | A amostra triturada é homogeneizada com uma mistura de hexano-éter dietílico. | -Hexano-éter dietílico. | Cartuchos de florissil. | [160] |
| | <u>Linurão</u> | -Batatas | A amostra triturada é homogeneizada com acetona. | -Acetona | Cartuchos de sílica após extracção líquido-líquido | |
| | Fenilureias | -Vegetais | A amostra triturada é homogeneizada com acetona. | -Acetona | Cromatografia de permeação de gel após extracção líquido-líquido | |
| | <u>Linurão</u> | -Cenouras | A amostra triturada é homogeneizada com água a um pH ácido | -Água | | |
| | <u>Linurão</u> | -Alho | A amostra triturada é homogeneizada com metanol. | -Metanol | Coluna de alumina | |

Continua

| Técnica de extracção | Pesticidas/Família | Matriz | Procedimento | Solvente | Etapas de clean-up | Ref. |
|----------------------|--|---|---|---|--|-------|
| Agitação mecânica | Sulfonilureias | -Sementes | A amostra triturada é homogeneizada com acetonitrilo. | -Acetonitrilo | | [160] |
| | <u>Linurão</u> | -Espargo | A amostra triturada é homogeneizada com metanol. | -Metanol | Coluna de Florisil após extracção líquido-líquido | |
| | Fenilureias | -Vegetais | A amostra triturada é homogeneizada com metanol. | -Metanol | Extracção líquido-líquido | |
| | Fenilureias | -Vegetais | A amostra triturada é homogeneizada com etanol. | -Etanol | Coluna de florisil após extracção líquido-líquido | |
| | <u>Linurão</u> | -Batatas | A amostra triturada é homogeneizada com acetona. | -Acetona | Coluna de florisil | |
| | Ureias | -Cereais | A amostra triturada é homogeneizada com metanol. | -Metanol | Cartuchos de sílica | |
| | Ureias | -Cereais | A amostra triturada é homogeneizada com etanol. | -Etanol | | |
| | Ureias | -Batatas | A amostra triturada é homogeneizada com metanol. | -Metanol | | |
| | Ureias | -Cereais -Sementes | A amostra triturada é homogeneizada com acetato de etilo. | -Acetato de etilo | Cromatografia de permeação de gel após extracção líquido-líquido | |
| | <u>Carbaril</u> <u>Carbofurão</u> <u>Clorprofame</u> <u>Monolinurão</u> <u>Linurão</u> | -Pepino -Morangos -Pimentos -Maça -Pêssego -Brócolos -Cerejas -Batatas -Melão -Alface -Peras -Uvas -Maças -Tomate -Cereais -Bananas -Cebola -Arroz -Milho | Para os pesticidas carbamatos a extracção é efectuada pela mistura de 30 g de amostra triturada com 80 mL de acetona e posteriormente é adicionada 120 mL de diclorometano. Para os restantes pesticida a extracção é realizada pela adição de 25 g de amostra triturada com 200 mL de acetona e 100 mL de hexano. | -Acetona, diclorometano. -Acetona, hexano. | Florisil | [173] |
| | Benzoilureias | -Tomate | 50 g de amostra triturada é homogeneizada com 75 mL de acetato de etilo durante 2 minutos. Após a agitação adicionar 80 g de sulfato de sódio anidro e agitar durante 1 minuto. | -Acetato de etilo. | Colunas de sílica | [109] |
| | Ureias | -Tomate | 60 g de amostra triturada são homogeneizadas com 60 mL de acetato de etilo, 50 g de sulfato de sódio anidro e 50 g de carbonato de sódio. | -Acetato de etilo. | Cromatografia de permeação de gel | [159] |
| | Carbamatos | -Vegetais | 2 kg de amostra são triturados, e uma amostra de 15 g é retirada e misturada com 50 mL de diclorometano durante 2 minutos. Aquando da filtração colocar sulfato de sódio no filtro. | -Diclorometano | | [156] |
| | Carbamatos | -Purê de maça. -Purê de tomate. -Sumo de limão concentrado | 10 g de amostra são homogeneizados com 40 mL de acetona e 7 g de cloreto de sódio. Homogeneizar durante 2 minutos. Adicionar 20 mL de acetona-ciclohexano (1:1, v/v) e agitar durante 1 minutos. | -Acetona, acetona-ciclohexano (1:1, v/v) | | [157] |
| | Carbamatos | -Ovos | 5 g de amostra são homogeneizados com 25 mL de acetonitrilo durante 1 minuto. Adicionar outra fracção de 25 mL de acetonitrilo e agitar durante 8 minutos. No final adicionar 15 mL de hexano e homogeneizar. | -Acetonitrilo, hexano | Cartuchos de sílica | [161] |
| | <u>Carbofurão</u> | -Cebola -Alface | Entre 10 a 25 g de amostra triturada é homogeneizada com azoto líquido, 1 mL de acetona e 9 mL de tampão fosfato 0,05M (pH=8,0). | -Acetona, tampão fosfato 0,05M (pH=8,0) | | [93] |

Continua

| Técnica de extracção | Pesticidas/Família | Matriz | Procedimento | Solvente | Etapas de clean-up | Ref. |
|----------------------|--|---|--|---|-----------------------------------|-------|
| Agitação mecânica | <u>Carbaril</u> | -Banana -Cenoura -Feijão Verde -Laranja -Pêssego -Tomate | Extracção efectuada em duas etapas. Na primeira etapa é realizada a extracção por agitação e na segunda etapa por LLE. 10 g de amostra triturada é homogeneizada com 10 mL de metanol e 5 mL de acetoneitrilo. Repetir a operação. Adicionar 0,5 g de cloreto de sódio e éter de petróleo, e realizar a extracção LLE. | -Acetoneitrilo, éter de petróleo. | -Coluna de celite silanizado | [123] |
| | <u>Carbaril</u> | -Citrosos | 5 g de amostra triturada é homogeneizada com 100 mL de ciclohexano e 20 g de sulfato de sódio anidro durante 8 minutos. | -Ciclohexano | Cromatografia de permeação de gel | [125] |
| | <u>Carbaril</u> <u>Carbofurão</u> | -Pepino; -Morangos | 15 g de amostra triturada foram homogeneizados com 30 mL de acetona durante 30 s numa centrífuga. Adicionar 30 mL de diclorometano e 30 mL de éter de petróleo e homogeneizar durante mais 60. | -Acetona, diclorometano, éter de petróleo | | [87] |
| | <u>Carbaril</u> <u>Carbofurão</u> | -Kiwi -Limão -Espinafres -Morangos | 8 g de amostra são homogeneizadas com 70 g de sulfato de sódio e 2 g de hidrogenocarbonato de sódio durante 2 minutos. Adicionar 50 mL de acetato de etilo e homogeneizar. | -Acetato de etilo | | [153] |
| | <u>Carbaril</u> <u>Carbofurão</u> | -Comida de bebé | 25 g de amostra é homogeneizada com 100 mL de acetato de sódio e 75 g de sulfato de sódio anidro durante 2 minutos. | -Acetato de etilo | Cromatografia de permeação de gel | [155] |
| | <u>Carbaril</u> <u>Carbofurão</u> | -Banana | 28 g de amostra triturada são homogeneizados com 50 mL de acetoneitrilo durante 5 minutos. Adição de 5 g de cloreto de sódio e agitar durante 5 minutos. | -Acetoneitrilo | Colunas de celite | [158] |
| | <u>Carbaril</u> <u>Carbofurão</u> | -Vegetais -Frutos | 20 g de amostra triturada é colocada num tubo de centrífuga. 10 mL de água são adicionados e o pH ajustado entre 6 a 7. As amostras são extraídas pela mistura com 40 mL de acetato de etilo durante 15 minutos. | -Acetato de etilo | | [152] |
| | <u>Carbaril</u> <u>Carbofurão</u> <u>Linurão</u> | -Feijão Verde -Pimentos -Pepino -Tomate -Melão | 10 g de amostra triturada é homogeneizada com 50 mL de acetato de etilo durante 2 minutos. Adicionar 20m g de acetato de sódio anidro e homogeneizar durante 1 minutos. | -Acetato de etilo | | [154] |

Tab. IV-2: Extracção de pesticidas nas diferentes matrizes utilizando como processo de extracção com líquidos pressurizados (PLE).

| Técnica de extracção | Pesticidas | Matriz | Procedimento | Solvente | Etapas de clean-up | Ref. |
|----------------------|-------------------|-----------|--|--|--------------------|-------|
| PLE | <u>Carbofurão</u> | -Laranjas | 5 g de amostra triturada é homogeneizada com 10 g de sulfato de sódio anidro. Esta mistura é o enchimento de vaso com capacidade de 22 mL. As condições de extracção são: 40 mL de diclorometano, à temperatura de 100 °C e à pressão de 2000 psi. O aquecimento foi durante 2 minutos e foram efectuados 2 ciclos. | -Diclorometano | | [194] |
| | <u>Linurão</u> | -Solos | A extracção por PLE foi efectuada para a extracção de cloroacetanilidas, fenilureias, triazinas e alguns produtos de degradação das matrizes de solos e amostras sólidas. A extracção foi realizada pela mistura de 15 g de solo seco com 30 mL de acetona sob as condições de 101,300 kPa e temperatura inferior a 80 °C. Acetona, metanol ou a mistura água-metanol foram os solventes de extracção escolhidos pelos autores. No entanto ao utilizar a acetona obteve-se melhores resultados de recuperação nas três famílias de pesticidas estudados. | -Acetona; -Metanol; -Água-metanol. | | [193] |

Tab. IV-3: Extracção de pesticidas nas diferentes matrizes utilizando como processo de extracção a extracção líquido-líquido (LLE).

| Técnica de extracção | Pesticidas/Família | Matriz | Procedimento | Solvente | Etapas de clean-up | Ref. |
|----------------------|--|----------------------------------|---|--|---|-------|
| LLE | Fenilureias | -Cenouras -Batatas | 20 g de amostra triturada são homogeneizadas com 40 mL de acetona e 20 mL de uma mistura de acetato de etilo-hexano (1:1, v/v). | -Acetona, Acetato de etilo-hexano (1:1, v/v) | A amostra foi purificada pela passagem: -cromatografia de permeação de gel -Cartuchos de florisil | [174] |
| | Sulfonilureias | -Arroz | 5 g de amostra são homogeneizadas com 100 mL de diclorometano. | -Diclorometano | Cartuchos de sílica | |
| | Benzoilureias | -Maças | 50g de maçãs trituradas são homogeneizadas com 100 mL de acetona. | -Acetona | Cromatografia de permeação de gel | |
| | Benzoilureias | -Solos | 50 g de solo são homogeneizados com uma mistura de metanol-0,1M de hidróxido de sódio (1:1, v/v). | -Metanol-0,1M de hidróxido de sódio (1:1, v/v) | | |
| | Sulfonilureias | -Solos | 20 g de solo é homogeneizado com 200 ml de uma mistura de metanol-0,1M tampão fosfato de potássio (1:1, vv). | -Metanol-0,1M tampão fosfato de potássio (1:1, v/v). | | |
| | Sulfonilureias | -Uvas | 10 g de amostra triturada é homogeneizada com 100 mL de acetonitrilo. | -Acetonitrilo | Cartuchos SCX | |
| | Fenilureias | -Culturas agrícolas | Homogeneização de 100 g de amostra triturada com 200 mL de acetona. | -Acetona | Cromatografia de permeação de gel | |
| | Benzoilureias | -Maças | 25 g de maçãs trituradas são homogeneizadas com 125 mL de diclorometano. | -Diclorometano | | |
| | Benzoilureias | -Uvas | 50g de maçãs trituradas são homogeneizadas com 125 mL de acetato de etilo. | -Acetato de etilo | Cartuchos de sílica | |
| | Benzoilureias | -Maças -Pera | 50g de amostra triturada são homogeneizadas com 125 mL de acetato de etilo | -Acetato de etilo | Cartuchos de sílica | |
| | <u>Butilato</u> <u>Carbaril</u> <u>Carbofurão</u> <u>Clorprofame</u> <u>EPTC</u> <u>Etiofencarbe</u> <u>Linurão</u> <u>Monolinurão</u> <u>Metobromurão</u> | -Mel -Sumo de fruta -Vinho | Pesar 15 g de amostra e adicionar 30 mL de água e agitar durante 15 minutos num banho a 40 °C, de modo a permitir a completa dissolução da amostra na água. Adicionar 10 mL de acetona, 40 mL de diclorometano. E transferir para um funil de separação. Agitar durante algum tempo. Passar a solução por sulfato de sódio. | -Água, acetona e diclorometano | Cartuchos de carvão preto grafitizado | [175] |
| | <u>Carbaril</u> <u>Carbofurão</u> | -Batata | 0,5 g de amostra triturada é homogeneizada com 1,75 mL de metanol durante 30 s usando um banho de ultra-sons. Adicionar 1,75 mL de água ultra-pura e 2,5 mL de éter de petróleo-diclorometano (1:1, v/v) e colocar a mistura no bano de ultra-sons durante 15 minutos. Centrifugar a 3000 rpm durante 17 minutos. | -Metanol, água ultra-pura, éter de petróleo-diclorometano (1:1, v/v) | Cartuchos C8 | [106] |
| | <u>Carbaril</u> <u>Carbofurão</u> | -Sumo de fruta | 20 mL de sumo de fruta é contaminado com os pesticidas e é adicionado 1 mL de cloreto de sódio 5M antes da extracção LLE. Adicionar à mistura 5 mL de ciclohexano-acetato de etilo-acetona (2:2:2, v/v/v) e homogeneizar durante 5 minutos. | -Ciclohexano-acetato de etilo-acetona (2:2:2, v/v/v) | | [100] |

Tab IV-4: Extracção de pesticidas nas diferentes matrizes utilizando como processo de extracção a extracção por Soxhlet (SOX).

| Técnica de extracção | Pesticidas/Família | Matriz | Procedimento | Solvente | Etapas de clean-up | Ref. |
|----------------------|---------------------|-------------------------------|---|---|-----------------------------------|-------|
| SOX | <u>Clorprofame</u> | -Solos | 10 g de amostra é colocado no vaso extractor com 250 mL de acetona durante 4 horas. | -Acetona | | [171] |
| | <u>Carbofurão</u> | -Maças -Alface -Batatas | 20 g de amostra triturada é misturada com uma mistura de acetona-éter de petróleo-diclorometano (1:2:2, v/v). A mistura é homogeneizada e a solução filtrada. O filtrado é colocado num vaso de soxhlet. | -acetona-éter de petróleo-diclorometano (1:2:2, v/v) | Cromatografia de permeação de gel | [177] |
| | <u>Etiofencarbe</u> | -Maças | Diferentes solventes de extracção foram testados. A extracção demorou cerca de 90 minutos, e o melhor resultado foi obtido para o acetato de etilo. A quantidade de solvente necessário para a extracção foi de 100 mL. | -Acetato de etilo; -Xileno; -Acetato de etilo-xileno (1:1, v/v) | | [178] |
| | Carbamatos | -Solos | A amostra é colocada em contacto com no vaso extractor com hexane-acetone (1:1) durante 24 h. Operação em continuo | -Hexano-acetona (1:1, v/v) | | [174] |
| | | | A amostra é colocada em contacto com os solventes de extracção. Operação em descontinuo. | -Acetonitrilo; -Metanol; -Água; -Acetona-metanol (1:1, v/v) | Cartuchos C18 | |

Tab IV-5: Extracção de pesticidas nas diferentes matrizes utilizando como processo de extracção a extracção por ultra-sons (USE).

| Técnica de extracção | Pesticidas/Família | Matriz | Procedimento | Solvente | Etapas de clean-up | Ref. |
|----------------------|---|--|--|---|--------------------|-------|
| USE | <u>Linurão</u> <u>Monolinurão</u> | -Batatas | Adicionar a 2,5 g de amostra triturada 8 mL de metanol e colocar no ultra-sons durante 30 segundos. Adicionar posteriormente 8 mL de água ultra-pura e 8 mL de uma mistura diclorometano-éter de petróleo (1:1, v/v). | -Metanol, Água ultra pura, Diclorometano-éter de petróleo (1:1, v/v) | Cartuchos C8 | [179] |
| | <u>Clorprofame</u> | -Solos | A 10 g de amostra de solo é adicionada 20 mL de solvente de extracção e colocado no banho de ultra-sons durante 15 minutos. | -Acetona; -Éter dietílico; -Clorofórmio; -Hexano; -Benzeno; -Acetonitrilo; -Diclorometano | | [171] |
| | <u>Carbofurão</u> <u>Carbaril</u> <u>Linurão</u> <u>Monolinurão</u> <u>Metobromurão</u> | -Solos | 30 g de solo é extraído num banho de ultra-sons com 40 mL de uma mistura de metanol-água (4:1, v/v) durante 20 minutos. | -Metanol-água (4:1, v/v) | | [180] |
| | <u>Carbofurão</u> | -Solos | Uma amostra de 5 g é colocada num vaso com 20 mL de acetona. A mistura é agitada num banho de ultra-sons durante 30 minutos. | -Acetona | | [181] |
| | <u>Carbofurão</u> | -Frutos -Vegetais | Recolha de 250 g de amostra e triturar. Retirar cerca de 2,5 g e contaminar com o conjunto de pesticida em estudo. Adicionar 5 mL de tampão fosfato 5mM (pH=7,0) e colocar num banho de ultra-sons durante 15 minutos. | -Tampão fosfato 5mM (pH=7,0) | | [90] |
| | <u>Carbaril</u> | -Ovos -Leite -Mel | 10 g de amostra é homogeneizada com 25 mL de acetona e 18 mL de hexano durante 15 minutos num banho de ultra-sons. O mel é dissolvido com 10 mL de água destilada antes de efectuar a extracção | -Acetona, hexano | Cartuchos de C18 | [89] |
| | <u>Linurão</u> | -Batatas -Cenouras | 2 g de amostra triturada é homogeneizada com um solvente de extracção num banho de ultra-sons durante 45 minutos. | -Metanol; -Acetonitrilo; -Acetona. | | [134] |
| | <u>Carbaril</u> <u>Carbofurão</u> | -Solos | 5 g de amostra são fortificados com 0,5 mL de suma solução contendo os pesticidas em estudo. Adicionar 5 mL de metanol e colocar num banho de ultra-sons durante 15 minutos. Adicionar 4 mL de metanol e ligar o banho de ultra-sons durante 15 minutos. | -Metanol. | | [99] |
| | <u>Carbofurão</u> <u>Linurão</u> | -Maças -Cenouras -Alface -Laranja -Batata -Sementes | É adicionado a 10 g de amostra, 40 mL de ácido acético-acetato de amónio 20 mM em metanol-água (95:5, v/v). A mistura é colocada num banho de ultra-sons durante 30 minutos. | -Ácido acético-acetato de amónio 20 mM em metanol-água (95:5, v/v) | | [83] |

Tab IV-6: Extracção de pesticidas nas diferentes matrizes utilizando como processo de extracção em fase sólida (SPE).

| Técnica de extracção | Pesticidas/Família | Matriz | Procedimento | Solvente | Etapas de clean-up | Ref. |
|----------------------|--|-------------------------------------|---|----------|---------------------------------------|-------|
| SPE | <u>Carbaril</u> | -Vinho | Lavagem dos cartuchos (3 mL) contendo 500 mg de C18 com 3 mL de acetato de etilo seguido de uma solução aquosa de 96% (v/v) de etanol e 3 por fim a passagem de 3 mL of 10% (v/v) etanol em água. | | | [184] |
| | <u>Linurão</u> <u>Metobromurão</u> <u>Monolinurão</u> | -Plantas | Uma amostra de 1 a 3 g de plantas são misturadas com 10 a 30 mL de ácido nítrico e homogeneizado durante 10 minutos. A solução ácida é depois continuamente aspirada para o sistema de SPE. | | | [185] |
| | <u>Butilato</u> <u>Carbaril</u> <u>Carbofurão</u> <u>Clorprofame</u> <u>EPTC</u> <u>Etiofencarbe</u> <u>Linurão</u> <u>Monolinurão</u> <u>Metobromurão</u> | -Mel -Sumo de fruta -Vinho | Pesar 15 g de amostra e adicionar 30 mL de água e agitar durante 15 minutos num banho a 40 °C, de modo a permitir a completa dissolução da amostra na água. Adicionar 10 mL de acetona, 40 mL de diclorometano. E transferir para um funil de separação. Agitar durante algum tempo. Passar a solução por sulfato de sódio. | | Cartuchos de carvão preto grafitizado | [175] |
| | Ditiocarbamatos | -Vegetais | 2 g de amostras são misturadas com 25 mL de água e colocadas num banho de ultra-sons durante 15 minutos. A suspensão é filtrada em filtros de porosidade 40 µm. O filtrado passa numa coluna de SPE que foi previamente condicionada com 10 mL de metanol e 10 mL de água destilada. A eluição é realizada com 10 mL de diclorometano-metanol (80:20, v/v). | | | [97] |
| | <u>Carbaril</u> | -Mel | 3 g de amostra é adicionada a 20 g de terra diatomacea. A mistura é colocada numa coluna e após 10 minutos é extraído com 100 mL de diclorometano. | | Cromatografia de permeação de gel | [183] |
| | <u>Carbaril</u> <u>Carbofurão</u> | -Maças -Feijão Verde -Laranja | 10 g de amostra triturada é adicionada 20 mL de acetona e homogeneizar durante 2 minutos. A coluna de SPE é condicionada com 6 mL de acetato de etilo, 6 mL de metanol e 8 mL de água desionizada. | | | [182] |

Tab IV-7: Extracção de pesticidas nas diferentes matrizes utilizando como processo de extracção por micro extracção em fase sólida (SPME).

| Técnica de extracção | Pesticidas/Família | Matriz | Procedimento | Solvente | Etapas de clean-up | Ref. |
|----------------------|---|---------------------------------|--|--|--------------------|-------|
| SPME | <u>Linurão</u> | -Solos | 2 mL de solução saturada de cloreto de sódio é adicionada à amostra que contém os pesticidas. Preencher o volume de 10 mL com água ultra-pura. Uma amostra de 5 mL é retirado e colocado num vial. Selar o vial e colocar a fibra de SPME. Agitar durante 75 minutos à temperatura de 25 °C. | -Solução saturada de cloreto de sódio, água. | | [186] |
| | Carbamatos | -Solos | A amostra está em contacto com uma mistura acetona-água (1:1, v/v), sendo a fibra constituída por Poliacrilato 80 µm. | -Acetona-água | | [176] |
| | <u>Linurão</u> <u>Monolinurão</u> <u>Metobromurão</u> | -Cenoura -Cebola -Batatas | 2 kg de amostra são triturados. Retirar 50 g de amostra adicionar 50 mL de água extra-pura, 5 mL de cloreto de sódio. Colocar a fibra de SPME. | -Água, cloreto de sódio | | [113] |

Tab. IV-8: Extracção de pesticidas nas diferentes matrizes utilizando como processo de extracção por dispersão da matriz em fases sólidas (MSPD).

| Técnica de extracção | Pesticidas/Família | Matriz | Procedimento | Solvente | Etapas de clean-up | Ref. |
|----------------------|--------------------------------------|---|--|----------|--------------------|-------|
| MSPD | Carbamatos | -Batatas | Uma porção de 0,5 g de amostra é misturada durante 5 minutos com 0,5 g de adsorbente C8 de modo a obter uma fase estacionária homogénea. Depois a mistura é colocada numa seringa de 10 mL de polipropileno. 3,0 mL de tampão fosfato 50 mM a pH de 7,4 e 10 mL de metanol são passados através da coluna. | | | [190] |
| | Ureias | -Azeitonas -Azeite | 50 g de azeitonas são trituradas e contaminadas com 5 mL de uma mistura padrão dos pesticidas em estudos. Adicionar 2 g de aminopropil. Transferir a mistura para uma minicoluna que contém 2 g de florisil. A minicoluna está ligada a uma bomba de vácuo e a eluição será efectuada com o fluxo de 3 mL/min e com acetoneitrilo. | | | [189] |
| | Carbamatos | -Mel | 0,5 g de amostra é misturado com 1,5 g de sílica activa. A mistura é colocada numa coluna de vidro que contém 1 g de alumina activa. No topo da coluna é colocado sulfato de sódio | | | [188] |
| | Ditiocarbamatos | -Vegetais | 0,5 g de amostra triturada são misturados com C8, C18, ou carvão. E homogeneizar de modo a obter uma mistura homogénea. Esta mistura é colocada numa coluna de vidro, no qual foi condicionada com 0,2 mL de água destilada e a eluição é efectuada com 20 mL de uma mistura de diclorometano-metanol (80:20, v/v). | | | [100] |
| | <u>Carbofurão</u> <u>Carbaril</u> | -Uvas -Laranja -Tomate -Cebola | 0,5 g de amostra triturada é homogeneizada com 0,5 g de material (C18, ou C8, ou fenil, ciano ou amino) e a mistura é colocada na coluna. 10 mL de diclorometano-acetonitrilo (60:40, v/v) é utilizada para a eluição dos pesticidas. | | | [187] |

Tab. IV-9: Extracção de pesticidas nas diferentes matrizes utilizando como processo de extracção com fluido supercrítico (SFE).

| Técnica de extracção | Pesticidas/Família | Matriz | Procedimento | Solvente | Etapas de clean-up | Ref. |
|----------------------|--------------------|--------|--|----------|--------------------|-------|
| SFE | <u>Carbaril</u> | -Solos | Os parâmetros de extracção são: temperatura de 70 °C, 10 minutos na célula à pressão de 150 atm seguida de extracções individuais a 200, 300 e 450 atm. Tempo total de extracção de 40 mL. | | | [192] |
| | <u>Clorprofame</u> | -Solos | Os parâmetros de extracção são: aquecimento à temperatura de 60 °C, 30 minutos sob a passagem de 300 kg/cm ² de CO ₂ supercrítico. | | | [88] |
| | Carbamatos | -Solos | Os parâmetros de extracção são: 5-10% metanol em CO ₂ . | | Cartucho de sílica | [176] |
| | <u>Carbaril</u> | -Solos | Condições de extracção: fluido de extracção CO ₂ ; pressão de extracção 300 kg/cm ² ; temperatura de extracção 40 °C e um fluxo de CO ₂ de 4,9 mL/min; tempo de extracção de 40 minutos e o volume dos vasos de 10 mL | | Coluna de florisil | [191] |

Tab. IV-10: Extracção de pesticidas nas diferentes matrizes utilizando como processo de extracção a extracção assistida por microondas (MAE).

| Técnica de extracção | Pesticidas/Família | Matriz | Procedimento | Solvente | Etapas de clean-up | Ref. |
|----------------------|---|--------|---|---|--------------------|-------|
| MAE | <u>Linurão</u> <u>Monolinurão</u> <u>Metobromurão</u> | -Solos | <p>5 g de amostra são contaminadas com 1 mL de solução padrão misto contendo os pesticidas a estudar. Adicionar 0,5 mL de água. E deixar repousar no vaso de microondas durante 1 dia. Adicionar 20 mL de solvente de extracção, fechar os vasos e colocar no microondas.</p> <p>Parâmetros de microondas: 10 minutos de extracção, 100% de potência e pressão de 690 kPa.</p> <p>As condições de microondas estudadas foram a temperatura (40, 60, 70, 80, 100 °C), e o solvente de extracção.</p> <p>As condições óptimas de extracção obtidas pelos autores foi de: 70 °C, diclorometano-metanol (9:1, v/v).</p> | <p>-Diclorometano; -Diclorometano-metanol (5:1, v/v) -Diclorometano-metanol (9:1, v/v) -Metanol-água (7:4, v/v); -Metanol-água (9:1, v/v)</p> | | [114] |
| | Sulfonilureias | -Solos | <p>10 g de amostra de solo são contaminadas com uma solução de pesticidas em estudo. Adicionar 20 mL de solvente de extracção (0.1 M NaHCO-diclorometano (2:1, v/v)).</p> <p>A extracção no microondas é realizada a 50 % de potência e com uma pressão de 100 psi.</p> <p>As condições de microondas estudadas foram a temperatura (40, 60, 70, 95, 115 °C) e o tempo de extracção (5, 10, 20 e 30 minutos)</p> <p>As condições óptimas de extracção obtidas pelos autores foi de: 60 °C, 10 minutos.</p> | 0.1 M NaHCO-diclorometano (2:1, v/v) | | [195] |
| | <u>Clorprofame</u> | -Solos | <p>2 g de amostra de solo são contaminadas com uma solução de pesticidas em estudo. Adicionar 30 mL de solvente de extracção, fechar os vasos e colocar no microondas.</p> <p>Parâmetros de microondas: 6 minutos de extracção, 80 % de potência e 115 °C.</p> <p>As condições de microondas estudadas foram o solvente de extracção.</p> <p>As condições óptimas de extracção obtidas pelos autores foram para os solventes de extracção: metanol, hexano-acetona (1:4, v/v) e hexano-acetona (1:1, v/v).</p> | <p>-Metanol; -Hexano-acetona (1:4, v/v); -Hexano-acetona (1:1, v/v); -Diclorometano -Hexano-acetona (4:1, v/v); -Água.</p> | | [107] |
| | <u>Clorprofame</u> | -Solos | <p>2 g de amostra de solo são contaminadas com uma solução de pesticidas em estudo. Adicionar o solvente de extracção, fechar os vasos e colocar no microondas.</p> <p>As condições de microondas estudadas foram: o solvente de extracção, temperatura de extracção (40, 60, 80 e 100 °C), tempo de extracção (4, 6, 8 e 10 minutos) e o volume do solvente de extracção (10, 20, 30 e 40 mL).</p> <p>As condições óptimas de extracção obtidas pelos autores foram 30 mL de solvente de extracção, metanol e 80 °C.</p> | <p>-Metanol; -Diclorometano; -Hexano-acetona (1:1, v/v); -Acetona.</p> | | [88] |

Anexo V – Métodos de análise de resíduos de pesticidas da família dos carbamatos e das ureias em produtos agrícolas e solos.

Tab. V-1: Métodos de análise na determinação de resíduos de pesticidas da família dos carbamatos e ureias.

| Família/Pesticidas | Matriz | Extracção | Análise | | | | | | | Contaminação (µg/kg) | LOD/LOQ (µg/kg) | Rec. (%) | Ref. Ano |
|--------------------|--|-------------------|---------------------------------|----------|------------------|-------------------|---|---|---------------------|-------------------------|----------------------------|-----------|-----------------|
| | | | Técnica | Detector | λ (nm) | Fluxo (mL/min) | Eluentes | Coluna | Vol inj. (µl) | | | | |
| Ureias | -Tomate | Agitação mecânica | Cromatografia em camada delgada | UV | 254 | 1,0 | Metanol-água (80-20, v/v), (isocrático) | C ₁₈ (30x4mm i.d.) | 20 | | LOD=10-60 | 85,0-115 | [159] 2002 |
| | -Azeite | MSPD | LC | MS/MS | | | (A)-0,1 % de ácido fórmico em água; (B)-acetonitrilo, (isocrático e gradiente) | Zorbax Eclipse XDB-C ₈ (150x4,6mm i.d., 5µm) | 50 | 100 500 | LOD=0,1-1,8 LOQ=0,2-7,7 | 66,7-128 | [189] 2005 |
| | -Tomate | Agitação mecânica | HPLC | F | Ex=330 Em=410 | 0,40 | Metanol-água (80-20, v/v), (isocrático) | Waters spherical silica (150x3,9mm i.d., 4µm) | 400 | 10 50 100 | LOD=5-21 LOQ=20-90 | 79,0-102 | [109] 2001 |
| | -Solos | MAE | HPLC | UV | 228 | 1,0 | (A)-Metanol; (B)-0,05% ácido trifluoroacético em água, (isocrático e gradiente) | Pikerton C ₁₈ (50x4,6mm i.d., 3µm) | 400 | 20 50 100 200 | | 60,0-90,0 | [222] 2001 |
| Carbamatos | -Pepino -Pimento -Tomate | Agitação mecânica | GC | MS/MS | | | | Fused-silica CP-Sil 8 CB (10mx0,53mm i.d., 0,25µm) | 10 | 50-500 | | 86,4-112 | [156] 2003 |
| | -Puré de maçã -Sumo de laranja -Puré de tomate | Agitação mecânica | LC | MS/MS | | 0,25 | (A)-0,1%ácido fórmico em água; (B)-acetonitrilo, (isocrático e gradiente) | 4µm Synergy Polar-RP (150x2,0mm i.d.) | 40 | 10-100 | | 80,0-100 | [157] 2004 |
| | -Mel | MSPD | GC | NPD | | | | HP1 capilar (30mx0,32mm i.d., 0,25µm) | | 30-1000 | LOD=5-45 LOQ=15-150 | 70,0-110 | [188] 2002 |
| | -Ovos | Agitação mecânica | LC | DAD | 220-350 | 1,0 | Água-acetonitrilo, (isocrático e gradiente) | Lichrospher RP C ₁₈ (250x4mm i.d., 5µm) | 20 | 5-100 | | 85,8-92,5 | [161] 2003 |

continua

| Família/Pesticidas | Matriz | Extracção | Análise | | | | | | | Contaminação (µg/kg) | LOD/LOQ (µg/kg) | Rec. (%) | Ref. Ano |
|----------------------------|---|----------------------|--|----------|---------|-------------------|---|--|---------------------|-------------------------|-----------------------|--|---------------|
| | | | Técnica | Detector | λ (nm) | Fluxo (mL/min) | Eluentes | Coluna | Vol inj. (µl) | | | | |
| Ditiocarbamatos | -Banana -Papaia -Laranja | Det. CS ₂ | Espectrofotometria | | | | | | | 80-3200 | | | [96] 2004 |
| | -Cereja -Limão -Alface -Laranja -Tomate -Arroz | SPE | LC | MS | | 0,80 | Água-metanol (isocrático e gradiente) | | | 250-25000 | LOQ=250-2500 | 70,0-110 | [97] 2004 |
| Carbamatos (carbofurão) | -Alface -Cebola | Agitação mecânica | Biosensores-FIA | | | | | | 80 | | | | [93] 2003 |
| | -Vegetais -Frutos | Agitação mecânica | Reacções cinéticas e espectrofotometria | | 510-710 | | | | | 9-180 | | 80,0-120 | [233] 2004 |
| | -Vegetais -Frutos | USE | Biosensores-FIA Filme de acetilcolinesterase | | | 2,0 | | | 50 | | | 95,0-109 | [90] 2005 |
| | -Solos | SFE | GC | MS | | | | HP-5MS (30mx0,25mm i.d., 0,25µm) | | 10000 | LOD=30,9 | 97,3-107 | [235] 2003 |
| | -Batata -Cenoura | Agitação mecânica | Biosensores | | | | | | | 10 50 125 | | Batata: 28,0, 34,0, 99,0 Cenoura 140, 90,0, 101 | [163] 1998 |
| | -Alface | Agitação mecânica | FIA | | | 4,0 | | | 50 | 100-200 | LOD=0,2 µg/mL | 64,0-73,0 | [236] 2005 |
| | -Maça -Uva -Sumo de fruta | Agitação mecânica | ELISA | | | | | | | 12,5 25 50 | | 107-115 | [234] 1997 |
| | -Maça -Alface -Batata | SOX | GC | MS | | | | HP-5MS (30mx0,25mm i.d., 0,25µm) | | 20 50 200 | LOD=7-10 LOQ=20-30 | 88,0-100 | [177] 2001 |

continua

| Família/Pesticidas | Matriz | Extracção | Análise | | | | | | | Contaminação (µg/kg) | LOD/LOQ (µg/kg) | Rec. (%) | Ref. Ano |
|-----------------------------|---|----------------------|---------------------------------|--------------------|------------------|-------------------|--|---|---------------------|-------------------------|--------------------|-----------|---------------|
| | | | Técnica | Detector | λ (nm) | Fluxo (mL/min) | Eluentes | Coluna | Vol inj. (µl) | | | | |
| Carbamatos (clorprofame) | -Solos | MAE | HPLC | UV | 225 | 0,80 | Acetonitrilo- água (40-60, v/v), (isocrático) | Phenomenex ODS C ₁₈ (150x4,6mm i.d., 5µm) | 20 | | | 70,0-99,0 | [107] 2002 |
| | -Batata | USE | HPLC | Chemiluminescência | | 0,80 | Acetonitrilo- água (60-40, v/v), (isocrático) | Nova Pack C ₁₈ (250x4,6mm i.d., 4µm) | 20 | 50 100 250 500 | LOD=3,4 | 97,6-102 | [237] 2004 |
| | -Solos | MAE | HPLC | UV | 225 | 0,80 | Acetonitrilo- água, (40-60, v/v) (isocrático) | Phenomenex ODS C ₁₈ (150x4,6mm i.d., 5µm) | 20 | | | 85,0-105 | [88] 2003 |
| | -Solos | USE | Cromatografia em camada fina | UV | 254 | | Metanol-água (8-2, v/v) | RP-18 F ₂₅₄ S, (20x0,25mm i.d.) | | | LOD=0,1 | 60,1-93,6 | [171] 1998 |
| Carbamatos (carbaril) | -Banana -Batata -Cenoura -Pêssego -Feijão verde -Sumo de laranja | LLE | ELISA | | | | | | | | | | [123] 1998 |
| | | | LC | DAD | 221 | 1,0 | Água- acetonitrilo, (isocrático e gradiente) | Zorbax SB-C ₁₈ (15cmx4,6mm i.d., 5µm) | 20 | | | | |
| | -Azeite | Agitação mecânica | HPLC | DAD | | 2,0 | Água-metanol (30-70, v/v), (isocrático) | Kromasil 100- 10 (50x4,6mm i.d.) | 20 | | | 92,0 | [238] 2004 |
| | | | GC | FID | | 1,8 | | Quadrex fused- silica (30x0,32m i.d., 0,25µm) | | | | | |
| | -Mel | Agitação mecânica | GC | NPD | | 15 | | Fused silica capillary SPB- 608 (30mx53µm i.d., 0,50µm) | | 100 | | 97,5 | [183] 2001 |
| | -Solos | SFE | LC | F | Ex=330 Em=450 | 1,0 | Água-metanol (55-45%), (isocrático) | C ₁₈ (150x4,6mm i.d.) | 10 | 25000 | | 91,5-108 | [192] 1997 |

continua

| Família/Pesticidas | Matriz | Extracção | Análise | | | | | | | Contaminação (µg/kg) | LOD/LOQ (µg/kg) | Rec. (%) | Ref. Ano |
|---------------------------------|--|----------------------|--------------------|----------|------------------|-------------------|---|--|---------------------|-------------------------|--------------------|-----------|-------------------|
| | | | Técnica | Detector | λ (nm) | Fluxo (mL/min) | Eluentes | Coluna | Vol inj. (µl) | | | | |
| Carbamatos (carbaril) | -Pepino -Batata -Maça -Banana | SFE | HPLC | DAD | 230 | 0,2 | Água-acetonitrilo, (isocrático e gradiente) | Wakosil II-2 C ₁₈ RS (150x2mm i.d., 3,5µm) | 10 | 500 | | 83,7-97,0 | [191] 2000 |
| | -Pepino | Agitação mecânica | FIA | | | 1,5-5 | | | 70 | 200-2000 | LOD=4,9 ng/mL | 69,2-91,3 | [239] 2004 |
| | -Mel -Leite | Agitação mecânica | Electroquímica | | | | | | | 10 30 50 90 | | | [89] 2004 |
| | | | HPLC | F | Ex=330 Em=465 | 1,0 | Água-acetonitrilo, (isocrático e gradiente) | Pickering C ₈ (25cmx4mm i.d. x 5 µm) | 20 | | LOD=2ng/mL | 106 | |
| | | | GC | NPD | | 2,0 | | Coluna capillary DB- 1(15mx0.25mm i.d., 0.25µm) | | | | | |
| | -Solos -Morango | Agitação mecânica | Espectrofotometria | | 475 | | | | | | LOD=0,03-0,06 µg/L | 95,7-102 | [240] 1998 |
| Ureias (linurão) | -Espinafre -Batata -Tomate -Maça -Pepino | Agitação mecânica | LC | MS/MS | | 0,2 | (A)-Água com 0,1% de ácido fórmico; (B)- metanol com 0,1% de ácido fórmico, (isocrático e gradiente) | XTerra MS C ₁₈ (10x2.1mm i.d., 5µm) | | 10 100 500 | | 56,0-116 | [165] 2006 |
| | -Solos | Agitação mecânica | HPLC | DAD | 210 | 1,0 | Água-metanol (35-65, v/v), (isocrático) | NovaPak C ₁₈ (159x3,9mm i.d.) | 20 | 10 25 50 | | 101 | [132] 1996 |
| | -Cenoura -Batata | Ultra-sons | HPLC | DAD | | 1,0 | (A)-Tampão acetato de amónio; (B)- acetonitrilo (isocrático e gradiente) | Zorbax SB-C ₁₈ (50x4,6mm i.d., 3,5 µm) | | 100 | LOD=2 | 60,0-100 | [134] 2000 |
| | -Solos | Agitação mecânica | Voltametria | | | | | | | 90 | | 90,0 | [110] 2001 |

continua

| Família/Pesticidas | Matriz | Extracção | Análise | | | | | | | Contaminação (µg/kg) | LOD/LOQ (µg/kg) | Rec. (%) | Ref. Ano |
|---|--|----------------------|---------|----------|------------------|-------------------|--|---|---------------------|----------------------------|--|-----------|-------------------|
| | | | Técnica | Detector | λ (nm) | Fluxo (mL/min) | Eluentes | Coluna | Vol inj. (µl) | | | | |
| Ureias (linurão) | -Solos | PLE | GC | MS/MS | | 1,0 | | 0BPX-5; SGE (30mx0,25mm i.d., 0,25µm) | | 10 30 120 | LOQ=0,5-5 | 85,0 | [193] 2005 |
| | | | LC | MS | | 0,4 | Água- acetonitrilo, (isocrático e gradiente) | Omnispher C ₁₈ (150x3mm i.d, 3µm) | 20 | | | | |
| | | | | MS/MS | | 0,4 | Água-metanol, (isocrático e gradiente) | Omnispher C ₁₈ (150x3mm i.d, 3µm) | 20 | | | | |
| Ureias (linurão, monolinurão) | -Batata | LLE | GC | NPD | | | | HP-5 (30mx0,53mm i.d., 2,65µm) | 1 | 100 300 640 | LOD _{linurão} =19-30 LOD _{monolinurão} =6-16 LOQ _{linurão} =96-149 LOQ _{monolinurão} =32-82 | 77,0-88,0 | [179] 2003 |
| | -Vegetais -Frutos -Carne -Peixe | Agitação mecânica | GC | MS | | | | DB-5 (30mx0,25mm i.d., 0,25µm) | | | | 95,0 | [173] 2000 |
| Carbamatos (carbaril, carbofurão, clorprofame) | Vegetais -Frutos | Agitação mecânica | HPLC | UV | 280 | | (A)-Metanol; (B)-0,07 M trietilamina / tampão fosfato (40-60%, v/v), (isocrático) | C ₈ (200x4 mm i.d., 5µm) | | 50 300 | | 92,0-110 | [241] 2001 |
| Carbamatos (carbofurão, carbaril) | -Solos | FMASE | HPLC | F | Ex=340 Em=445 | 0,80 | Metanol-água, (isocrático e gradiente) | Ultrabase C ₁₈ (250x4,6mm i.d., 5µm) | 20 | 10000 | | 75,0-80,0 | [101] 2002 |
| | -Cenoura -Batata | SPE | HPLC | UV | 195 | 1,0 | Acetonitrilo- água (30-70, v/v), (isocrático) | LiChropher 100 R-18 (125x4mm i.d., 5µm) | 20 | 100 500 1000 | | 79,0-91,0 | [92] 1998 |
| | -Laranja -Uvas -Cebola -Tomate | MSPD | HPLC | MS | | 1,0 | Acetonitrilo- água-metanol, (isocrático e gradiente) | LiChrosorb rp-8 (10x4,6mm i.d., 5µm) | 20 | 10 100 1000 10000 | | 64,0-106 | [187] 2000 |

continua

| Família/Pesticidas | Matriz | Extracção | Análise | | | | | | | Contaminação (µg/kg) | LOD/LOQ (µg/kg) | Rec. (%) | Ref. Ano |
|--|---|----------------------|--|------------|------------------|-------------------|--|--|---------------------|-------------------------|---|---|-------------------|
| | | | Técnica | Detector | λ (nm) | Fluxo (mL/min) | Eluentes | Coluna | Vol inj. (µl) | | | | |
| Carbamatos (carbofurão, carbaril) | -Batata -Cenoura -Pimento doce | LLE | Biosensores-FIA Filme de acetilcolinesterase | | | | | | | 10 50 125 | | 98,0-99,8 | [163] 1998 |
| | | | HPLC | UV | 195 | 1,0 | Acetonitrilo- água (30-70, v/v), (isocrático) | LiChropher 100 R-18 (125x4mm i.d., 5µm) | 20 | | | 68,0-96,0 | |
| | -Pepino -Morango | Agitação mecânica | ELISA | | | | | | | 10 50 200 | | 60,0-90,0 | [87] 1999 |
| | | | HPLC | F | Ex=339 Em=445 | 0,5 | Acetonitrilo- água-metanol, (isocrático e gradiente) | Waters C ₈ - 150x3,9mm i.d., 4µm) | 400 | | | 50,0-90,0 | |
| | -Batata | LLE | GC | FID NPD | | | | Hewlett- Packard capillary column HP-1 (25mx0,25mm i.d., 0,25 µm) | 1,0 | 500 10000 | LOD _{FID} =50-210 LOD _{NPD} =41-53 | 72,0-115 | [106] 2001 |
| | -Uva -Kiwi -Morango -Espinafre -Limão -Pêssego -Nectarina | Agitação mecânica | LC | MS/MS | | 0,5 | (A)-Acetato de sódio 10 mM; (B)-metanol (30-70, v/v), (isocrático) | Hypersil C ₁₈ BDS (100x4,6mm i.d., 3 µm) | 20 | 10-800 | | 70,0-84,0 | [153] 2002 |
| | -Maça -Feijão Verde -Laranja | SPE | GC | MS | | | | DB-35MS (30x0,25mm i.d., 0,25µm) | 2 | 10 20 200 500 | | >80,0 | [182] 2003 |
| | -Solos -Pepino -Maça -Pêra | USE | LC | F | | 0,8 | Metanol-água, (isocrático e gradiente) | Ultrapase C18 (250cmx4,6mm i.d., 5µm) | 30 | 1000 | LOD _{carbofurão} =12 LOQ _{carbofurão} =40 LOD _{carbaril} =3 LOQ _{carbaril} =10 | Solos 77,0-95,0 Alimentos 85,0-101 | [105] 2003 |
| | -Banana | Agitação mecânica | Fluorimetrico | UV F | Ex=281 Ex=273 | | | | | | | 100-112 | [158] 2003 |

continua

| Família/Pesticidas | Matriz | Extracção | Análise | | | | | | | Contaminação (µg/kg) | LOD/LOQ (µg/kg) | Rec. (%) | Ref. Ano |
|---|--------------------------------|----------------------|---------|------------|------------------|-------------------|---|--|---------------------|---|---|-----------|---------------|
| | | | Técnica | Detector | λ (nm) | Fluxo (mL/min) | Eluentes | Coluna | Vol inj. (µL) | | | | |
| Carbamatos (carbofurão, carbaril) | -Papa para bebés | Agitação mecânica | ELISA | | | | | | | 1 5 | LOD _{carbofurão} =0,3 LOD _{carbaril} =0,04 () | 60,0-100 | [155] |
| | | | HPLC | MS/MS | | 0,5 | Metanol-água, (isocrático e gradiente) | Hewlett- Packard-C ₁₈ (15cmx3mm i.d., 5µm) | 20 | 1 50 250 500 | LOD=1 (carbofurão, carbaril) | 73,0-104 | 2003 |
| | -Vegetais -Frutos | Agitação mecânica | LC | MS/MS | | 0,3 | (A)-0,1% ácido fórmico em água; (B)- 0,1% ácido fórmico em metanol, (isocrático e gradiente) | Nucleosil 100-5 C ₁₈ HD (70x3mm i.d.) | 10 | 10 100 1000 | LOQ=10 | 98,0-122 | [152] 2004 |
| | -Solos | USE | HPLC | F | Ex=330 Em=465 | 0,3 | Metanol-água, (isocrático e gradiente) | C ₈ (250x4,0mm i.d.) | | 10 100 200 500 | LOQ=10 | 87,6-98,7 | [99] 2003 |
| | -Batata | LLE | GC | NPD FID | Ex=330 Em=450 | | | Hewlett- Packard HP-1 (25mx0,25mm i.d., 0,25 µm) | 1 | 500 10000 | LOD=41-53 LOQ=50-210 | 72,0-115 | [106] 2001 |
| | -Couve chinesa | Agitação mecânica | FIA | F | Ex=390 Em=530 | 1,0 | | | | | LOD _{carbaril} =3,5 LOD _{carbofurão} =50 | 93,2-107 | [242] 2004 |
| Ureias (linurão, metobromurão, monolinurão) | -Solos | MAE | LC | UV | 244 | 1,0 | Acetonitrilo- água, (isocrático e gradiente) | Suplex pKb- 100 C ₁₈ (150x4,6mm i.d., 5µm) | 200 | 10 50 100 | | 80,0-120 | [114] 2000 |
| | -Cenoura -Cebola -Batata | SPME | GC | NPD | | 1,5 | | BP10 (30mx0,25mm i.d., 0,25µm) | | 2,5 25 100 250 1000 2500 | LOQ=0,8-2,2 | 83,0-92,0 | [113] 2004 |
| | -Plantas | SPE | GC | MS | | | | Fused silica capillary (30mx0,25mm i.d.) | 1 | 200 400 600 | LOD=0,5-5 mg/L | 98,0-99,0 | [185] 2002 |

continua

| Família/Pesticidas | Matriz | Extracção | Análise | | | | | | | Contaminação (µg/kg) | LOD/LOQ (µg/kg) | Rec. (%) | Ref. Ano |
|---|--|-------------------|---------|----------|--------|-------------------|---|--|---------------------|-------------------------|--|-----------|-------------------|
| | | | Técnica | Detector | λ (nm) | Fluxo (mL/min) | Eluentes | Coluna | Vol inj. (µl) | | | | |
| Carbamatos (carbofurão, carbaril) Ureias (linurão, monolinurão, metobromurão) | -Pepino -Feijão Verde -Tomate -Melão -Pimento | Agitação mecânica | LC | MS/MS | | 0,2 | (A)-Metanol; (B)-tampão de amónio 2 mM pH=2,8, (isocrático e gradiente) | Polaris C ₁₈ -A (150x2,0mm i.d., 5µm) | 10 | 9-250 | LOD _{carbofurão} =0,03 LOD _{carbaril} =0,05 LOD _{linurão} =0,16 LOD _{monolinurão} =0,08 LOD _{metobromurão} =0,14 LOQ _{carbofurão} =0,10 LOQ _{carbaril} =0,15 LOQ _{linurão} =0,54 LOQ _{monolinurão} =0,27 LOQ _{metobromurão} =0,46 | 72,0-104 | [154] 2004 |
| | -Solos | SPE | LC | MS | | 0,2 | (A)-Metanol com 0,01% de ácido acético; (B)-0,01% de ácido acético, (isocrático e gradiente) | Atlantis dC18 (150x2,0mm i.d., 5µm) | 20 | | LOD=0,5-2,5 LOQ=1,5-5,0 | 60,0-110 | [180] 2005 |
| Carbamatos (carbofurão, carbaril) Ureias (linurão) | -Vegetais -Frutos | Agitação mecânica | LC | MS/MS | | 0,3 | (A)-Metanol; (B)-tampão de amónia 10 mM, (isocrático e gradiente) | Genesis C ₁₈ (100x3mm i.d., 4µm) | 5 | 10 50 500 | | 80,0-95,0 | [243] 2004 |
| Carbamatos (carbaril) Ureias (linurão) | -Maça -Cenouras -Alface -Laranja -Batata -Cereias | USE | LC | MS/MS | | 0,3 | (A)-Tampão acetato de amónia-ácido acético 20mM em água ultra-pura; (B)-acetato de amónia-ácido a 20 mM em metanol (95:1); (isocrático e gradiente) | Genesis C ₁₈ (100x3mm i.d., 4µm) | 10 | 20 40 200 | LOD _{carbaril} =5-10 LOD _{linurão} =5-15 LOQ _{carbaril} =0,15 LOQ _{linurão} =0,54 | 66,0-109 | [83] 2004 |

continua

| Família/Pesticidas | Matriz | Extracção | Análise | | | | | | | Contaminação (µg/kg) | LOD/LOQ (µg/kg) | Rec. (%) | Ref. Ano |
|---|---|--------------------|---------|----------|---------|-------------------|---|--|---------------------|-------------------------|--|---|-------------------|
| | | | Técnica | Detector | λ (nm) | Fluxo (mL/min) | Eluentes | Coluna | Vol inj. (µl) | | | | |
| Carbamatos (butilato, carbaril, carbofurão, clorprofame, EPTC, etiofencarbe) Ureias (linurão, metobromurão, monolinurão) | -Sumo de fruta -Mel -Vinho | SPE | LC | MS/MS | | 1,2 | | Atlantis TM dC ₁₈ (150x2,1mm i.d., 3 µm) | 1 | 2-3000 | LOQ _{butilato} =37,5 LOQ _{carbaril} =20,0 LOQ _{carbofurão} =10,0 LOQ _{clorprofame} =25,0 LOQ _{EPTC} =37,5 LOQ _{etiofencarbe} =8,00 LOQ _{linurão} =50,0 LOQ _{monolinurão} =50,0 LOQ _{metobromurão} =75,0 | Butilato 51,0-91,0 Carbaril 68,0-120 Carbofurão 93-129 Clorprofame 64,3-106 EPTC 49,2-90,6 Etiofencarbe 67,5-104 Linurão 61,5-103 Monolinurão 68,8-129 Metobromurão 68,8-129 | [175] 2006 |
| | | | GC | MS | | 0,2 | Acetonitrilo- água (isocrático e gradiente) | DB-1701 (30mx0.25mm i.d., 0.25 µm) | 20 | | | | |
| Carbamatos (butilato, carbaril, carbofurão, clorprofame, EPTC) Ureias (linurão, metobromurão, monolinurão) | -Tomate -Couve -Laranja -Ervilha -Cereais | LLE | TLC | UV | 254/365 | | Acetona- metanol-água (1:1:1, v/v/v) (isocrático e gradiente) | | | | | 65,0-80,0 | [166] 2005 |
| Carbamatos (carbaril) Ureias (linurão, metobromurão) | -Batata -Ervilha -Milho | Agitação manual | HPLC | DAD | 244 | 1,0 | Acetonitrilo- água (isocrático e gradiente) | Stainless steel G (125x4,6mm i.d.) | 20 | 100 | | 86,0-102 | [162] 2005 |

Anexo VI - Fluxogramas das várias etapas experimentais

Preparação da amostra

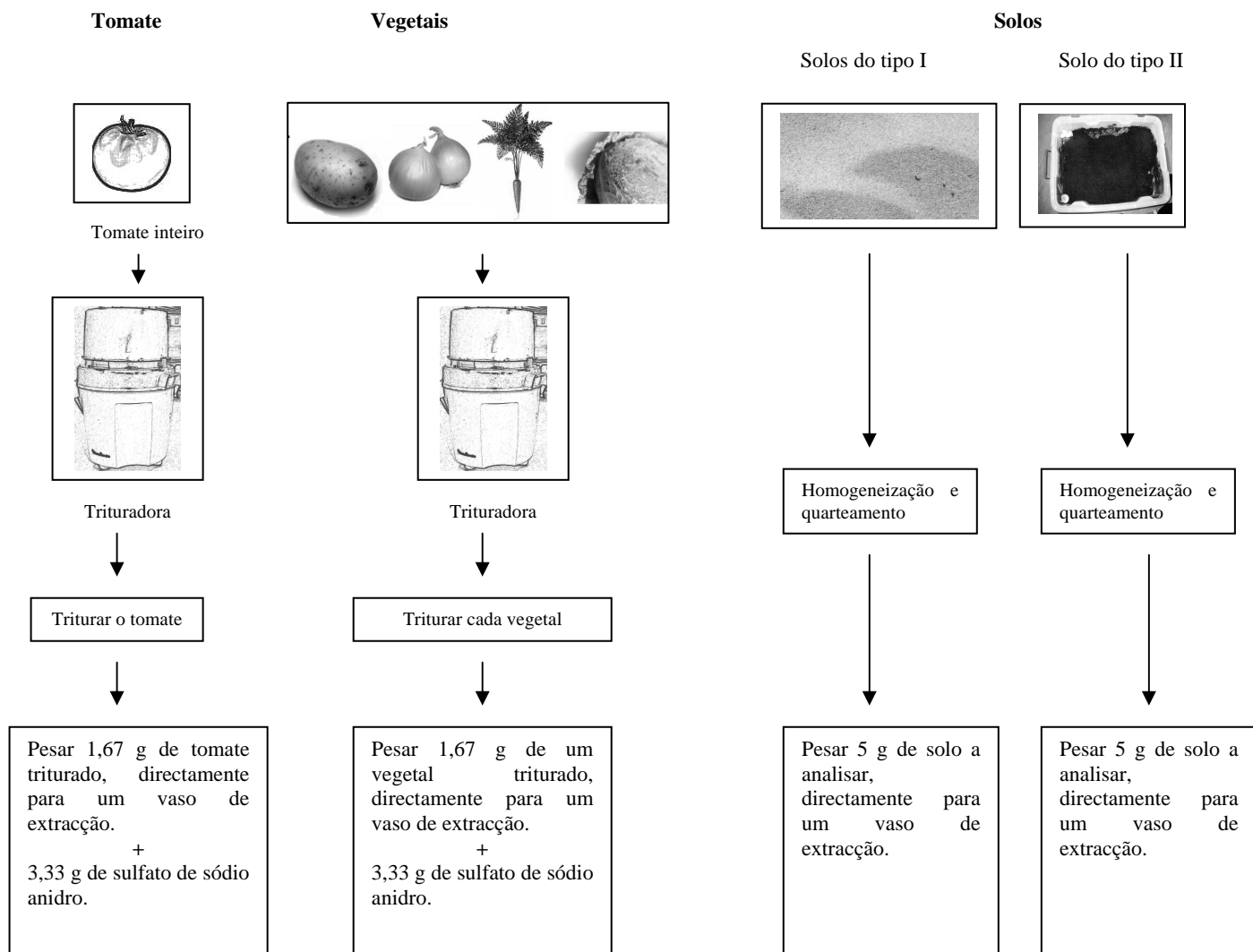
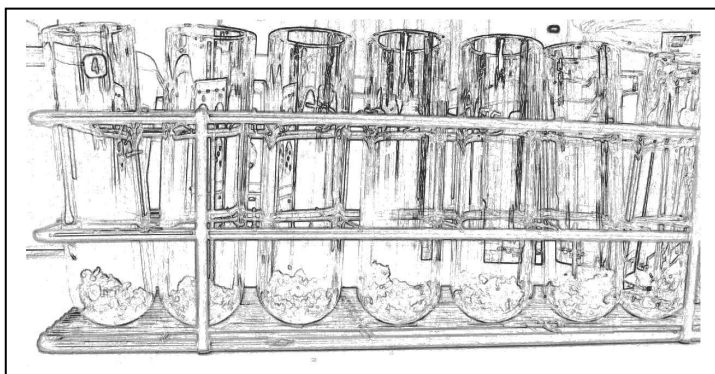
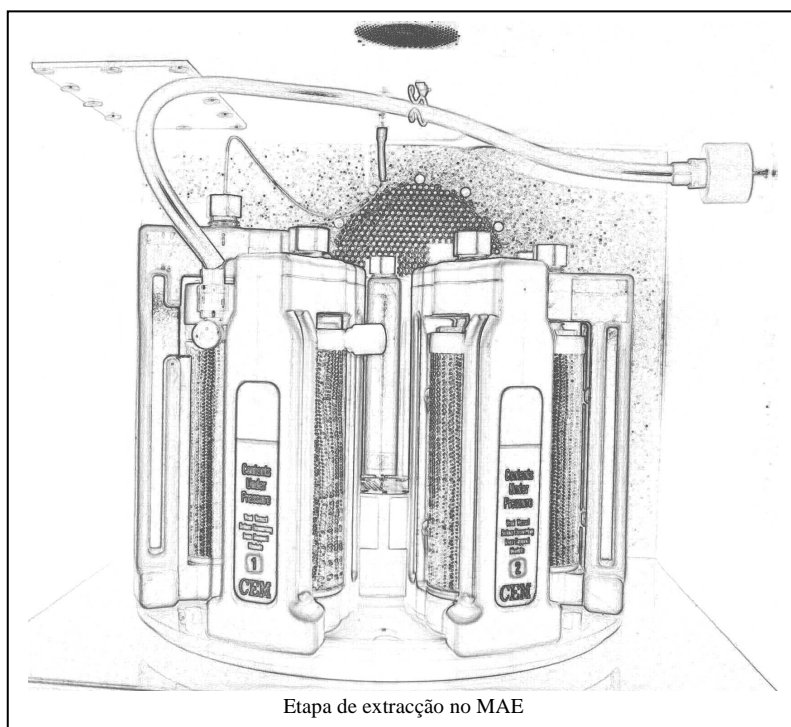


Fig. VI-1: Fluxograma do procedimento referente à preparação da amostra (imagens tratadas).

Etapa de extracção



Vasos de extracção com a amostra a extrair



Etapa de extracção no MAE

Condições de extracção:

Rampa de 10 minutos para atingir a temperatura pretendida.

20 mL de solvente de extracção.

Tempo de extracção de 10 minutos.

Temperatura de extracção: tomate e vegetais de 60 °C, solos de 70 °C.

Pressão de 100 psi.

Potência dependendo do número de vasos (300 W para 3 vasos, 600 W para 6 vasos, 900 W para 9 vasos e 1200 W para 12 vasos).

Agitação média.

Após a extracção deixar arrefecer até temperatura de 30 °C e só depois abrir o microondas e retirar os suportes que contêm os vasos de extracção.

Fig. VI-2: Fluxograma do procedimento referente à etapa de extracção (imagens tratadas).

Filtração do extracto e evaporação do solvente de extracção

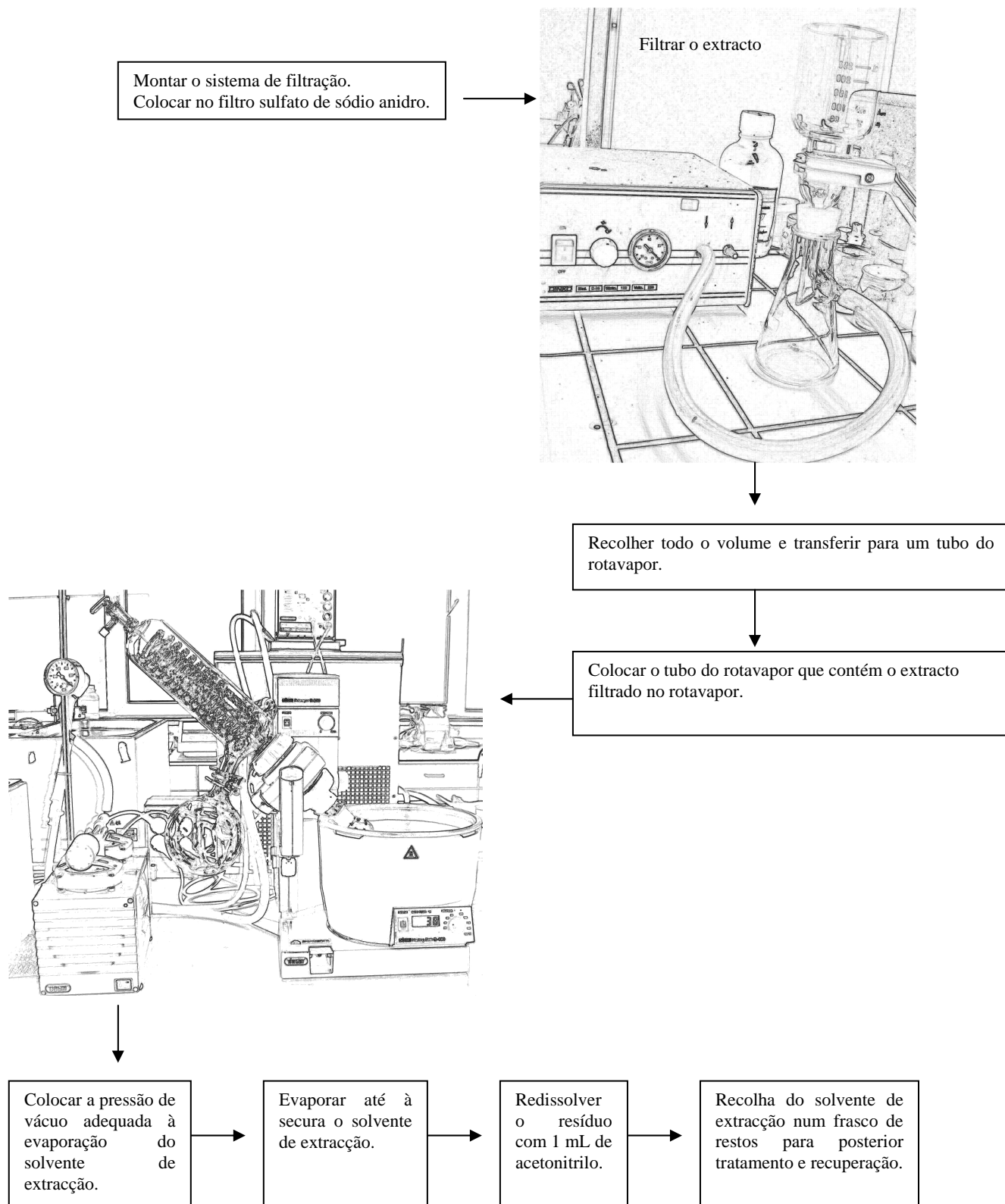


Fig. VI-3: Fluxograma do procedimento referente às etapas de filtração do extracto e evaporação do solvente de extracção (imagens tratadas).

Filtração do extracto para análise cromatográfica

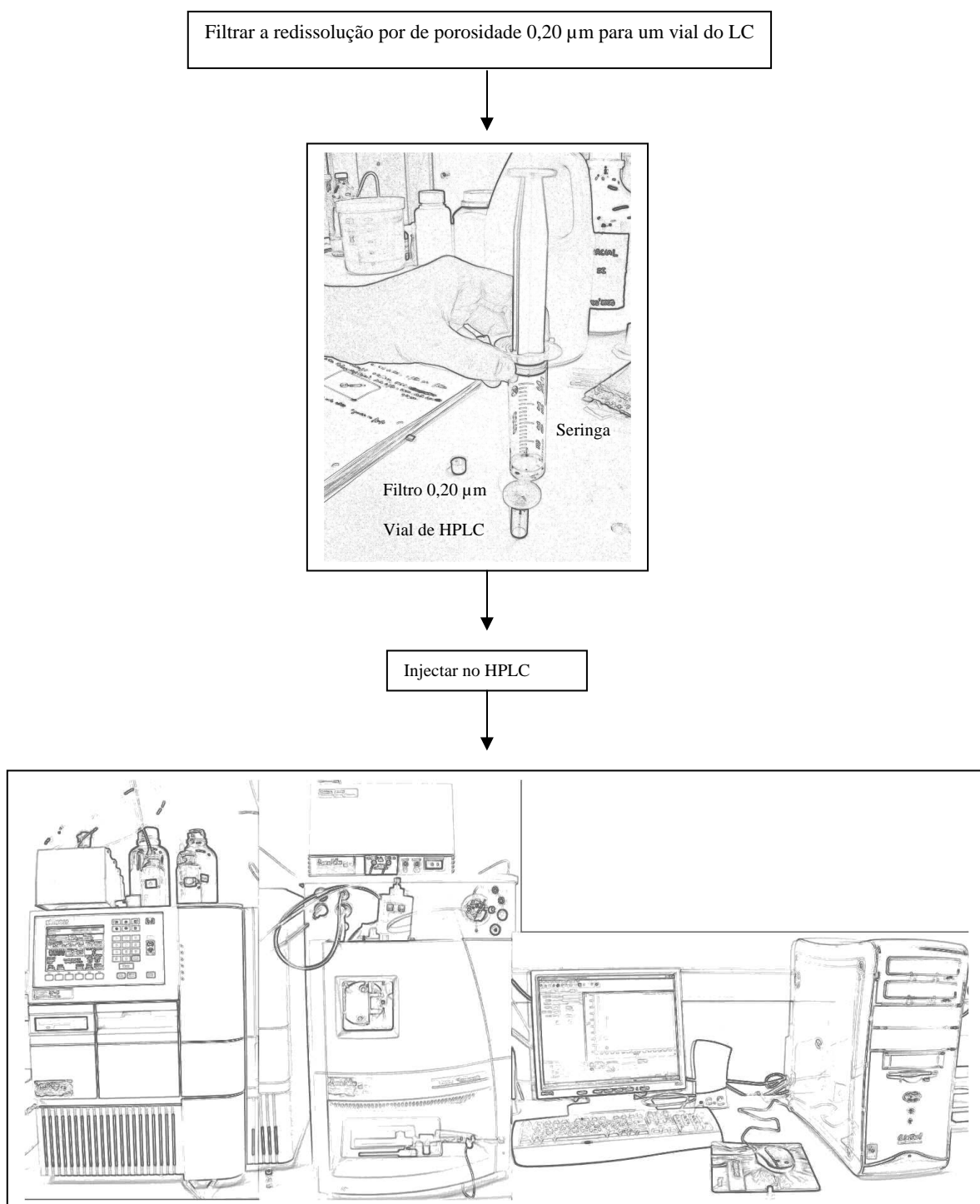


Fig. VI-4: Fluxograma do procedimento referente à filtração do extracto para análise cromatográfica (imagens tratadas).

AnexoVII - Variedades existentes de tomate

Tab. VII-1: Variedades de tomate^[261-263].

| VARIEDADES DE TOMATE | | | |
|-------------------------|----------------------------------|-----------------------------|-------------------------------|
| 20209 | Aporã | Caqui Híbrido Momotaro T-93 | Embiú |
| 31903 | Assanga | Caqui Híbrido Momotaro York | Empire |
| 31904 | Asterix | Caqui Híbrido Ooju | Enduro Sf 6500 |
| 98-5 | Astona | Caribe | Ercole |
| Abaeté | Atã | Carla Tomato F1 Hybrid | Eros |
| Abebe | Ataque | Carmem | Espadilha F1 |
| Açã | Athenas Lsl F1 | Carolina | Euromec |
| Açaíba | Avansus | Carovita Tomato F1 Hybrid | Everest |
| Acarú | Baeti | Cartika Híbrido F1 | Exota Tomato F1 Hybrid |
| Acatú | Baetyba | Caspian Pink | Express |
| Ace | Bagual | Catu | F 6868 |
| Af 1550 | Barão Vermelho | Catussaba | F1 Netta |
| Af 6925 | Big Rio # 5 | Catyba | F1 Yellow Debut |
| Af 6946 | Bona F1 | Cazador | Fanny |
| Af 8651 | Bonelle F1 | Cebae | Finestra |
| Af 8655 | Bonny | Cereja Híbrido F1 Cascade | Firefly |
| Agata | Bos 38209 F1 | Cereja Laranja | Floradade |
| Agrocica 26 | Botu 13 | Cereja Samambaia | Floradel |
| Agrocica 27 | Brs San Vito | Cereja Vermelho | Flórida 47 |
| Agrocica 33 | Brs Tospodoro Pto | Charleston | Flórida 91 |
| Agrocica 45 | Bs 8067 | Cherry | Flory Tomato F1 Hybrid |
| Agrocica 72 | Bs 8450 | Chibli | Fortyl |
| Agrocica Botu 13 L | Cacatú | Chicago | Franco |
| Alboran F1 Rz | Cal-Ace | Chucha | Frida |
| Alexandros Lsl F1 | Cal-J | Claríssima F-1 Híbrida | Fuji |
| Ambopoc | Caline Ipa 7 | Clx3706 F1 | Gardenfreude |
| Amsterdã | Caline Ipa-6 | Cocktail Sweet Million F1 | Gaucho |
| Anatolia | Calmec J | Colibri F1 | Gaúcho Marmande |
| Andassú | Calmec Vf | Colosso | Gaúcho Melhorado Nova Geração |
| Andino | Calmec Vfn | Concorde (Ag 595) | Gaúcho Melhorado Nova Seleção |
| Anet | Calypso | Constanza | Gem Pack |
| Angatuba | Cambeba | Coquetel Tomato F1 Hybrid | Gem Pear |
| Angela Gigante | Cambui | Coração De Bocaina | Gem Pride |
| Ângela Gigante | Canary Yellow | Coração de Boi | Gisella F1 |
| Ângela Gigante (I-5100) | Caqui Grande Liso Margoble | Design | Giuliana |
| Angela Hiper | Caqui Híbrido Ogata Fukuju | Diva | Golden Sunrise |
| Ângela Hiper | Caqui Híbrido Grandeur | Dom Luiz | Gourmet Híbrido F1 |
| Angélica | Caqui Híbrido Havanera | Donador | Grandeur |
| Antillas F1 Rz | Caqui Híbrido Humboldt | Drd 8169 | Granitio |
| Ap 529 | Caqui Híbrido Jane | Drk 489 | Guacá |
| Ap 533 | Caqui Híbrido Kyoryoku Beiju | Duke | Guaracapa |
| Ap 535 | Caqui Híbrido Kyoryoku Beiju N.2 | Dulce | Guaraci |
| Ap 865 | Caqui Híbrido Letícia | Duradoro | Guaraitã |
| Aparatã | Caqui Híbrido Master N.2 | Ef 50 | H 12 |
| Apiaká | Caqui Híbrido Momotaro | Ef 52 | H-1370 |
| Apollo | Caqui Híbrido Momotaro House | Ellen F1 | H7155 |

Continua

| VARIEDADES DE TOMATE | | | |
|----------------------|-------------------------------|--------------------------------|--------------------------------|
| H9033 | Hib. Early Dicer F1 | Híbrido Amazon | Híbrido F1 Mountain Pride |
| H9035 | Hib. Early Nemabrix F1 | Híbrido Andrea | Híbrido F1 Simona |
| H9036 | Hib. Earlyrock F1 | Híbrido Ap 982 | Híbrido F1 Syrius |
| H9143 | Hib. Fm 1114 N F1 | Híbrido Athenas Ef F1 | Híbrido F1 Toro |
| H9144 | Hib. Fm 1115 Np F1 | Híbrido Atlas F1 | Híbrido Fa - 144 |
| H9175 | Hib. Hm 5887 F1 | Híbrido Bambino F1 | Híbrido Facundo |
| H9176 | Hib. Nema Crimson F1 | Híbrido Big Rio # 15 F1 | Híbrido F1 7964 |
| H9281 | Hib. Nemabrix F1 | Híbrido Blood Mary (C8030) | Híbrido Fm 1066 Np (Tpr 46388) |
| H9387 | Hib. Nemagiant F1 | Híbrido Bonus F1 | Híbrido Fonto |
| H9422 | Hib. Nemarock F1 | Híbrido Bravo F1 | Híbrido Fortaleza |
| H9423 | Hib. Oroloma F1 | Híbrido Bruna (Vfn 1300) | Híbrido Frisco (Tpr 46387) |
| H9425 | Hib. Pepita F1 | Híbrido Calmarzano F1 | Híbrido Fundador F1 Lsl |
| H9464 | Hib. Rio Milagro F1 | Híbrido Camila | Híbrido Gabriela |
| H9474 | Hib. Rio Oro F1 | Híbrido Carmen | Híbrido Gina |
| H9478 | Hib. Rocky F1 | Híbrido Cascadas Lsl F1 | Híbrido Gina F1 |
| H9491 | Hib. Sonora F1 | Híbrido Chipano | Híbrido Giovanna F1 |
| H9492 | Hib. Sun 6235 F1 | Híbrido Cláudia Vfn | Híbrido Gisele |
| H9494 | Hib. Super Dicer F1 | Híbrido Coco | Híbrido Glory |
| H9497 | Hib. Supera F1 | Híbrido Colorado (Ag 05) | Híbrido Graziella Lsl F1 |
| H9498 | Hib. Ug 104 F1 | Híbrido Cronos Lsl F1 | Híbrido Ha 3019 |
| H9531 | Hib. Ug 709 F1 | Híbrido Cxd 222 | Híbrido Ha 3057 |
| H9532 | Hib. Vtm 622 | Híbrido Cynthia | Híbrido Ha 3105 |
| H9552 | Hib. Vtm 663 | Híbrido Débora Max | Híbrido Ha 3108 |
| H9553 | Hib. Vtm 671 | Híbrido Débora Plus | Híbrido Ha 3163 |
| H9554 | Hib. Vtm 691 | Híbrido Débora Vfn | Híbrido Ha 3189 |
| H9557 | Hib. Vtm 692 | Híbrido Delta | Híbrido Ha 3193 |
| H9641 | Hib. Vtm 693 | Híbrido Diablo | Híbrido Ha 3207 |
| H9661 | Híbrido 1570 | Híbrido Diabolic | Híbrido Ha 3209 |
| H9663 | Híbrido 68130 | Híbrido Diana | Híbrido House Momotaro |
| H9665 | Híbrido 68400 | Híbrido Diva | Híbrido Indio (5810) |
| H9701 | Híbrido 68960 | Híbrido Duplo | Híbrido Infinity |
| H9701 | Híbrido 68962 | Híbrido Durino Lsl F1 | Híbrido Jéssica |
| H9811 | Híbrido Acangatã | Híbrido Easypeel | Híbrido Jessica Star |
| H9881 | Híbrido Acclaim | Híbrido Elanor Lsl F1 | Híbrido Joker Lsl F1 |
| H9882 | Híbrido Açó | Híbrido Emperor F1 | Híbrido Jordana |
| H9885 | Híbrido Af-2573 | Híbrido Erika Lsl F1 | Híbrido Juliet |
| H9909 | Híbrido Af-2607 | Híbrido F1 Alambra | Híbrido Jupiter |
| H9993 | Híbrido Af-2611 | Híbrido F1 Altair | Híbrido Karina F1 Longa Vida |
| Haya | Híbrido Af-2612 | Híbrido F1 Athena | Híbrido Katia |
| Hayslip | Híbrido Af-3254 | Híbrido F1 Avalon | Híbrido Lambada |
| Heinz 1370f | Híbrido Af-4392 | Híbrido F1 Cassio | Híbrido Larissa |
| Heleena F1 Rz | Híbrido Af-4463 | Híbrido F1 Cereja | Híbrido Law 1100 |
| Hib. 924 F1 | Híbrido Af-7631 | Híbrido F1 Clarisse Longa Vida | Híbrido Leila |
| Hib. Apollo F1 | Híbrido Agora F1 | Híbrido F1 Hector | Híbrido Lenor Lsl F1 |
| Hib. Athenas F1 | Híbrido Akamaru Gigante | Híbrido F1 Laura | Híbrido Leticia Lsl F1 |
| Hib. Bravo F1 | Híbrido Akemi Lsl F1 | Híbrido F1 Magnificat | Híbrido Lili |
| Hib. Clarice F1 | Híbrido Alongado Akemi Drc195 | Híbrido F1 Magnus | Híbrido Linha De Frente |
| Hib. Dominador F1 | Híbrido Amareto Lsl F1 | Híbrido F1 Majestade | Híbrido Longa Vida Sindy Rc110 |

Continua

| VARIEDADES DE TOMATE | | | |
|----------------------|-------------------------------|--------------------------------|--------------------------------|
| H9033 | Hib. Early Dicer F1 | Híbrido Amazon | Híbrido F1 Mountain Pride |
| H9035 | Hib. Early Nemabrix F1 | Híbrido Andrea | Híbrido F1 Simona |
| H9036 | Hib. Earlyrock F1 | Híbrido Ap 982 | Híbrido F1 Syrius |
| H9143 | Hib. Fm 1114 N F1 | Híbrido Athenas Ef F1 | Híbrido F1 Toro |
| H9144 | Hib. Fm 1115 Np F1 | Híbrido Atlas F1 | Híbrido FA - 144 |
| H9175 | Hib. Hm 5887 F1 | Híbrido Bambino F1 | Híbrido Facundo |
| H9176 | Hib. Nema Crimson F1 | Híbrido Big Rio # 15 F1 | Híbrido FL 7964 |
| H9281 | Hib. Nemabrix F1 | Híbrido Blood Mary (C8030) | Híbrido FM 1066 NP (TPR 46388) |
| H9387 | Hib. Nemagiant F1 | Híbrido Bonus F1 | Híbrido Fonto |
| H9422 | Hib. Nemarock F1 | Híbrido Bravo F1 | Híbrido Fortaleza |
| H9423 | Hib. Oroloma F1 | Híbrido Bruna (VFN 1300) | Híbrido Frisco (Tpr 46387) |
| H9425 | Hib. Pepita F1 | Híbrido Calmarzano F1 | Híbrido Fundador F1 Lsl |
| H9464 | Hib. Rio Milagro F1 | Híbrido Camila | Híbrido Gabriela |
| H9474 | Hib. Rio Oro F1 | Híbrido Carmen | Híbrido Gina |
| H9478 | Hib. Rocky F1 | Híbrido Cascadas Lsl F1 | Híbrido Gina F1 |
| H9491 | Hib. Sonora F1 | Híbrido Chipano | Híbrido Giovanna F1 |
| H9492 | Hib. Sun 6235 F1 | Híbrido Cláudia Vfn | Híbrido Gisele |
| H9494 | Hib. Super Dicer F1 | Híbrido Coco | Híbrido Glory |
| H9497 | Hib. Supera F1 | Híbrido Colorado (Ag 05) | Híbrido Graziella Lsl F1 |
| H9498 | Hib. Ug 104 F1 | Híbrido Cronos Lsl F1 | Híbrido Ha 3019 |
| H9531 | Hib. Ug 709 F1 | Híbrido Cxd 222 | Híbrido Ha 3057 |
| H9532 | Hib. Vtm 622 | Híbrido Cynthia | Híbrido Ha 3105 |
| H9552 | Hib. Vtm 663 | Híbrido Débora Max | Híbrido Ha 3108 |
| H9553 | Hib. Vtm 671 | Híbrido Débora Plus | Híbrido Ha 3163 |
| H9554 | Hib. Vtm 691 | Híbrido Débora Vfn | Híbrido Ha 3189 |
| H9557 | Hib. Vtm 692 | Híbrido Delta | Híbrido Ha 3193 |
| H9641 | Hib. Vtm 693 | Híbrido Diablo | Híbrido Ha 3207 |
| H9661 | Híbrido 1570 | Híbrido Diabolic | Híbrido Ha 3209 |
| H9663 | Híbrido 68130 | Híbrido Diana | Híbrido House Momotaro |
| H9665 | Híbrido 68400 | Híbrido Diva | Híbrido Indio (5810) |
| H9701 | Híbrido 68960 | Híbrido Duplo | Híbrido Infinity |
| H9701 | Híbrido 68962 | Híbrido Durino Lsl F1 | Híbrido Jéssica |
| H9775 | Híbrido Açang | Híbrido Dynamo Lsl F1 | Híbrido Jessica Plus |
| H9811 | Híbrido Acangatã | Híbrido Easypeel | Híbrido Jessica Star |
| H9881 | Híbrido Acclaim | Híbrido Elanor Lsl F1 | Híbrido Joker Lsl F1 |
| H9882 | Híbrido Açó | Híbrido Emperor F1 | Híbrido Jordana |
| H9885 | Híbrido Af-2573 | Híbrido Erika Lsl F1 | Híbrido Juliet |
| H9909 | Híbrido Af-2607 | Híbrido F1 Alambra | Híbrido Jupiter |
| H9993 | Híbrido Af-2611 | Híbrido F1 Altair | Híbrido Karina F1 Longa Vida |
| Haya | Híbrido Af-2612 | Híbrido F1 Athena | Híbrido Katia |
| Hayslip | Híbrido Af-3254 | Híbrido F1 Avalon | Híbrido Lambada |
| Heinz 1370f | Híbrido Af-4392 | Híbrido F1 Cassio | Híbrido Larissa |
| Heleena F1 Rz | Híbrido Af-4463 | Híbrido F1 Cereja | Híbrido Law 1100 |
| Hib. 924 F1 | Híbrido Af-7631 | Híbrido F1 Clarisse Longa Vida | Híbrido Leila |
| Hib. Apollo F1 | Híbrido Agora F1 | Híbrido F1 Hector | Híbrido Lenor Lsl F1 |
| Hib. Athenas F1 | Híbrido Akamaru Gigante | Híbrido F1 Laura | Híbrido Leticia Lsl F1 |
| Hib. Bravo F1 | Híbrido Akemi Lsl F1 | Híbrido F1 Magnificat | Híbrido Lili |
| Hib. Clarice F1 | Híbrido Alongado Akemi Drc195 | Híbrido F1 Magnus | Híbrido Linha De Frente |
| Hib. Dominador F1 | Híbrido Amareto Lsl F1 | Híbrido F1 Majestade | Híbrido Longa Vida Sindy Rc110 |

Continua

| VARIEDADES DE TOMATE | | | |
|--------------------------------------|----------------------|----------------------------|----------------------------------|
| Híbrido Lsl Razan | Híbrido VTM 660 | Kariri | Mundi Tomato F1 Hybrid |
| Híbrido Magnet | Híbrido VTM 662 | Kastália | Mykonos |
| Híbrido Malinta | Híbrido VTM 670 | Kindyo | Nanda |
| Híbrido Mariana | Híbrido VTM 678 | Kombat | Napoli VF |
| Híbrido Mascot F1 (TSR 46268) | Híbrido VTM 683 | Lana | Nema Crimson |
| Híbrido Mfh 0007 | Híbrido VTM 706 | Laranja Para Salada | Nemadoro |
| Híbrido Milenium | Híbrido VTM 707 | Law 1022 | Nemagiant |
| Híbrido Miss Brasil LSL F1 | Híbrido VTM 710 | Law 1123 | Nemo-Netta |
| Híbrido Momotaro T-93 | Híbrido VTM 713 | LD 958922 F.1 | Netta |
| Híbrido Monalisa | Híbrido VTM 714 | Leila | Nexus |
| Híbrido Mountain Belle | Híbrido VTM 726 | Marangatú | Nova Ângela (G 51) |
| Híbrido Nádia | Híbrido VTM 727 | Maranguara | Nun 150 |
| Híbrido Nemark LSL F1 | Híbrido VTM 728 | Marglobe | Olympo |
| Híbrido Netuno | Híbrido VTM 729 | Marina TY Tomato F1 Hybrid | Ômega |
| Híbrido Odoriko | Híbrido XTM-9814 | <u>Marmande</u> | Orco |
| Híbrido Ogata Fukuju | Híbrido Yellow Pear | Matador | Paron |
| Híbrido Paola | Híbrido Yellow Pico | Matueté | Paronset |
| Híbrido Para Penca Amarelo Gold Boss | Híbrido Yonit Lsl F1 | Max | Pataxó |
| Híbrido Para Penca Laranja Debbie | Hybrid Zuley | Máximo | Pêra Amarelo |
| Híbrido Para Penca Renata DRC101 | Hilda | Mercúrio | Petomech |
| Híbrido Para Penca Rita DRC107 | Hna915279 | MFH 7039 | Petomech Etti |
| Híbrido Pégase | Hy-Color 312 | MFH 9002 | Picadilly |
| Híbrido Pegasus F1 | Hypeel 108 | MFH7009fl | Pitaguari |
| Híbrido Pepe | Hypeel 303 | MFH7009ml | Pitenza F1 |
| Híbrido Pepe | Hypeel 347 | MFH7035fl | Pizzadoro |
| Híbrido Perita Macció | Hypeel 513 | MFH7035ml | Pyros F1 |
| Híbrido Philippos Lsl F1 | Hypeel 562 | MFH7036 | Plutão |
| Híbrido Piccolo F1 | Hypeel 696 | MFH7036fl | Polyana |
| Híbrido Pico | Hypeel 849 | MFH7036ml | Poranga |
| Híbrido Pollux F1 | Iac Santa Clara | MFH7043 | Porangatú |
| Híbrido Potro (4809) | Iguaçu | MFH7043fl | Pori |
| Híbrido Pto Af-6165 | Ikran F1 Hybrid | MFH7043ml | Porta Enxerto Híbrido Anchor T |
| Híbrido Queen Anna | Império | MFH9318fl | Porta Enxerto Híbrido Doctor K |
| Híbrido Queen Elizabeth | Industrial | MFH9318ml | Porta Enxerto Híbrido Helper-M |
| Híbrido Queen Margot | Industrial UC-82 | MFH9324fl | Porta Enxerto Híbrido Kaguemusha |
| Híbrido Queen Sofia | IPA 5 | MFH9324ml | Porta Enxerto Rootstock F1 LS-89 |
| Híbrido R-593 | IPA 6 | MFH9343fl | Possanga |
| Híbrido Raisa | IPA-5 | MFH9343ml | Precocix |
| Híbrido Rani | ISI 29616 | Micro Peach | Príncipe Gigante |
| Híbrido Rebeca | Itacatú | Micro Tom | PS 345 |
| Híbrido Vitara N LSI F1 | Itaeté | Miramar | PS 37511 |
| Híbrido Vitória (Alcudia) | Itaiba | Miroma | PS 41816 |
| Híbrido VTM 572 | Itapitã | Misora | PS 6914 |
| Híbrido VTM 615 | Javaé | Momotaro J | PX 384 |
| Híbrido VTM 633 | Jenna F1 RZ | Moneymaker | Quadrado Mix |
| Híbrido VTM 638 (MFH 5008) | Jennifer | Monito | Qualit 21 |
| Híbrido VTM 648 | Kada | Monte Carlo | Qualit 23 |
| Híbrido VTM 649 (Mfh0002) | Kaiapó | Monte Cristo | Qualit 24 |
| Híbrido VTM 652 | Kamonium | Multix | R-449 (TPR 46527) |

Continua

| VARIEDADES DE TOMATE | | | |
|-------------------------|----------------------------|-------------------------|--------------------------|
| <u>Rama</u> | Santa Cruz Angela Super | XP 02510214 | Yubi |
| Rasteiro Rio Grande | Santa Cruz Kada (Paulista) | XP 02520359 | Yucumã |
| Rasteiro Riogrande | Santa Cruz Kada Gigante | XP 02520363 | Yuma |
| Razan | Santalina Tomato F1 Hybrid | XTM 1455 | Zenith |
| Red Chief | Santamélia | XTM 1456 | ZU 357 |
| Red SKY | Saray | XTM 1819 | XP 02520363 |
| Red Spring | Saturno | XTM 2305 | XTM 1455 |
| Red Sugar | Sebring | Yandara | XTM 1456 |
| RFT 2703 | Séculus | Tumbler | XTM 1819 |
| RFT 2705 | Sensação | TY 2006 | XTM 2305 |
| RFT 41.650 | Setcopa F1 | TY-75 | Yandara |
| RFT 42.705 | Shani | Tyler | Yashi |
| RFT8109 | Sicilio | U 232 | Yuba Industrial |
| Rio Fuego | Siluet | U 729 | Ws4030 Tomato F1 Hybrid |
| Rio Grande | Simeone | U-2003 | XP 02500066 |
| Rio Grande Super | SM-16 | U-2006 | XP 02500068 |
| Rio Milagro | Sofia | U-2008 | XP 02510214 |
| Rio Orinoco | Sonia F1 | U-2009 | XP 02520359 |
| Rio Resistant | Soraya | U-2010 | Vita |
| Robin Red | TY 2006 | UC 105 J | VTM 705 |
| Rodas | TY-75 | UC-82 B | VTM 720 |
| Roma | Tyler | UG 009 F1 | VTM 705 |
| <u>Roma VF</u> | U 232 | VF 6203 | VTM 720 |
| Roma VFN | U 729 | Viradoro | WS 4030 Tomato F1 Hybrid |
| Romana Tomato F1 Hybrid | U-2003 | Vita | XP 02500066 |
| Roqueso (Ag 591) | U-2006 | UG 010 F1 | Vênus |
| Rosita Tomato F1 Hybrid | U-2008 | UG 33402 | VF 6203 |
| Royal Chico VFN | U-2009 | UG 8169 F1 | Viradoro |
| Rubitpc 103 | U-2010 | Upiá | UG 33402 |
| Ruthy | UC 105 J | Valentin F1 Rz | UG 8169 F1 |
| Rutiele | UC-82 B | VB-215 | Upiá |
| Saara | UG 009 F1 | VB-224 | Sahel F1 Hybrido |
| Sadiq | UG 010 F1 | Veluet | San Marzano |
| Santa Adelia | Valentin F1 Rz | Santa Clara Miss Brasil | Sansone |
| Santa Adelia Super | VB-215 | Santa Clara VF 5600 | XP 02500068 |
| Santa Clara | VB-224 | Santa Clara VF 2000 | Santa Cruz |
| Santa Clara 5.800 | Veluet | Santa Clara F1 | Vênus |
| Santa Clara HT | Santa Clara III | Santa Clara I-5.300 | Santa Clara Kada Gigante |

Anexo VIII - Caracterização das matrizes estudadas

Tab. VIII-1: Média, desvio padrão e % CV para todos os ensaios efectuados na caracterização das diferentes amostras em termos de pH.

| Amostra | Estado de maturação | Ensaio | pH | pH _{médio} | Desvio padrão | % CV |
|--|---------------------|--------|------|---------------------|---------------|------|
| T _{Marmande} -2-3-Maia | Maduro | 1 | 4,01 | 4,00 | 0,02 | 0,38 |
| | | 2 | 4,00 | | | |
| | | 3 | 3,98 | | | |
| T _{Roma VF} -2-2-Maia | Amadurecer | 1 | 3,80 | 3,80 | 0,01 | 0,15 |
| | | 2 | 3,80 | | | |
| | | 3 | 3,79 | | | |
| T _{Roma VF} -2-3-Maia | Maduro | 1 | 3,97 | 3,97 | 0,01 | 0,15 |
| | | 2 | 3,97 | | | |
| | | 3 | 3,96 | | | |
| TRama-5-3-Almería | Maduro | 1 | 3,86 | 3,84 | 0,02 | 0,40 |
| | | 2 | 3,84 | | | |
| | | 3 | 3,83 | | | |
| T _{Rama} -2-1-Maia | Verde | 1 | 3,63 | 3,62 | 0,01 | 0,32 |
| | | 2 | 3,63 | | | |
| | | 3 | 3,61 | | | |
| T _{Rama} -2-2-Maia | Amadurecer | 1 | 3,70 | 3,72 | 0,04 | 1,09 |
| | | 2 | 3,77 | | | |
| | | 3 | 3,70 | | | |
| T _{Rama} -2-3-Maia | Maduro | 1 | 3,84 | 3,84 | 0,01 | 0,15 |
| | | 2 | 3,85 | | | |
| | | 3 | 3,84 | | | |
| T _{Rama} -5-1-Norte de Portugal | Verde | 1 | 3,56 | 3,56 | 0,01 | 0,16 |
| | | 2 | 3,57 | | | |
| | | 3 | 3,56 | | | |
| T _{Rama} -5-2-Norte de Portugal | Amadurecer | 1 | 3,60 | 3,61 | 0,02 | 0,42 |
| | | 2 | 3,61 | | | |
| | | 3 | 3,63 | | | |
| T _{Rama} -5-3-Norte de Portugal | Maduro | 1 | 3,83 | 3,82 | 0,01 | 0,30 |
| | | 2 | 3,81 | | | |
| | | 3 | 3,83 | | | |
| T _{Rama} -4-3-Coimbra | Maduro | 1 | 3,79 | 3,79 | 0,01 | 0,15 |
| | | 2 | 3,80 | | | |
| | | 3 | 3,79 | | | |
| T _{Rama} -4-1-Póvoa de Varzim | Verde | 1 | 3,59 | 3,59 | 0,01 | 0,16 |
| | | 2 | 3,60 | | | |
| | | 3 | 3,59 | | | |
| T _{Rama} -4-2-Póvoa de Varzim | Amadurecer | 1 | 3,75 | 3,75 | 0,01 | 0,15 |
| | | 2 | 3,76 | | | |
| | | 3 | 3,75 | | | |
| T _{Rama} -4-3-Póvoa de Varzim | Maduro | 1 | 3,81 | 3,82 | 0,01 | 0,15 |
| | | 2 | 3,82 | | | |
| | | 3 | 3,82 | | | |

Continua

| Amostra | Estado de maturação | Ensaio | pH | pH _{médio} | Desvio padrão | % CV |
|---|---------------------|--------|------|---------------------|---------------|------|
| T _{Rama} -6-2-Portugal | Amadurecer | 1 | 3,69 | 3,70 | 0,01 | 0,27 |
| | | 2 | 3,70 | | | |
| | | 3 | 3,71 | | | |
| T _{Rama} -6-3-Portugal | Maduro | 1 | 3,80 | 3,81 | 0,01 | 0,30 |
| | | 2 | 3,82 | | | |
| | | 3 | 3,82 | | | |
| T _{Cherry} -5-2-Andaluzia | Amadurecer | 1 | 3,59 | 3,58 | 0,01 | 0,28 |
| | | 2 | 3,58 | | | |
| | | 3 | 3,57 | | | |
| T _{Cherry} -5-3-Andaluzia | Maduro | 1 | 3,72 | 3,71 | 0,01 | 0,16 |
| | | 2 | 3,71 | | | |
| | | 3 | 3,71 | | | |
| T _{Coração de Boi} -4-1-Coimbra | Verde | 1 | 3,60 | 3,59 | 0,01 | 0,28 |
| | | 2 | 3,58 | | | |
| | | 3 | 3,59 | | | |
| T _{Coração de Boi} -4-2-Coimbra | Amadurecer | 1 | 3,69 | 3,68 | 0,01 | 0,31 |
| | | 2 | 3,67 | | | |
| | | 3 | 3,67 | | | |
| T _{Coração de Boi} -4-3-Coimbra | Maduro | 1 | 3,91 | 3,90 | 0,01 | 0,15 |
| | | 2 | 3,90 | | | |
| | | 3 | 3,90 | | | |
| T _{Coração de Boi} -1-1-V.N.Gaia | Verde | 1 | 3,60 | 3,59 | 0,01 | 0,28 |
| | | 2 | 3,58 | | | |
| | | 3 | 3,59 | | | |
| T _{Coração de Boi} -1-2-V.N.Gaia | Amadurecer | 1 | 3,69 | 3,68 | 0,01 | 0,31 |
| | | 2 | 3,67 | | | |
| | | 3 | 3,67 | | | |
| T _{Coração de Boi} -1-3-V.N.Gaia | Maduro | 1 | 3,91 | 3,90 | 0,01 | 0,15 |
| | | 2 | 3,90 | | | |
| | | 3 | 3,90 | | | |
| T _{Chucha} -4-1-Coimbra | Verde | 1 | 3,61 | 3,61 | 0,01 | 0,16 |
| | | 2 | 3,61 | | | |
| | | 3 | 3,60 | | | |
| T _{Chucha} -4-2-Coimbra | Amadurecer | 1 | 3,68 | 3,68 | 0,01 | 0,16 |
| | | 2 | 3,68 | | | |
| | | 3 | 3,69 | | | |
| T _{Chucha} -4-3-Coimbra | Maduro | 1 | 3,75 | 3,76 | 0,01 | 0,15 |
| | | 2 | 3,76 | | | |
| | | 3 | 3,76 | | | |
| T _{Chucha} -6-3-Portugal | Maduro | 1 | 3,84 | 3,84 | 0,01 | 0,26 |
| | | 2 | 3,85 | | | |
| | | 3 | 3,83 | | | |

Continua

| Amostra (marca) | Ensaio | pH | pH _{médio} | Desvio padrão | % CV |
|--|--------|------|---------------------|---------------|------|
| B-V.N.Gaia | 1 | 5,30 | 5,30 | 0,01 | 0,11 |
| | 2 | 5,31 | | | |
| | 3 | 5,30 | | | |
| Cb-V.N.Gaia | 1 | 3,91 | 3,92 | 0,01 | 0,15 |
| | 2 | 3,92 | | | |
| | 3 | 3,92 | | | |
| Ce-V.N.Gaia | 1 | 3,53 | 3,53 | 0,01 | 0,16 |
| | 2 | 3,53 | | | |
| | 3 | 3,52 | | | |
| R-V.N.Gaia | 1 | 4,39 | 4,39 | 0,01 | 0,13 |
| | 2 | 4,38 | | | |
| | 3 | 4,39 | | | |
| Tomate pelado (compal) | 1 | 3,81 | 3,80 | 0,01 | 0,15 |
| | 2 | 3,80 | | | |
| | 3 | 3,80 | | | |
| Polpa de tomate (compal) | 1 | 4,06 | 4,05 | 0,01 | 0,14 |
| | 2 | 4,05 | | | |
| | 3 | 4,05 | | | |
| Ketchup (calvé) | 1 | 3,40 | 3,40 | 0,01 | 0,17 |
| | 2 | 3,41 | | | |
| | 3 | 3,40 | | | |
| Atum em tomate (Pescamar-Espanha) | 1 | 5,34 | 5,32 | 0,02 | 0,38 |
| | 2 | 5,30 | | | |
| | 3 | 5,32 | | | |
| Sardinhas em tomate (Albo-Espanha) | 1 | 5,30 | 5,30 | 0,01 | 0,11 |
| | 2 | 5,30 | | | |
| | 3 | 5,31 | | | |
| Sardinhas em tomate (Ramirez-Portugal) | 1 | 5,50 | 5,51 | 0,01 | 0,21 |
| | 2 | 5,52 | | | |
| | 3 | 5,52 | | | |
| Solo do tipo I (Norte de Portugal) | 1 | 8,69 | 8,70 | 0,02 | 0,18 |
| | 2 | 8,70 | | | |
| | 3 | 8,72 | | | |
| Solo do tipo II (Norte de Portugal) | 1 | 7,30 | 7,32 | 0,03 | 0,34 |
| | 2 | 7,32 | | | |
| | 3 | 7,35 | | | |

Tab. VIII-2: Média, desvio padrão e % CV para todos os ensaios efectuados na caracterização das diferentes amostras em termos de percentagem de humidade.

| Amostra | Estado de maturação | Ensaio | Antes de colocar na estufa | | Após o aquecimento | %Humidade | %Humidade média | Desvio padrão | % CV |
|--|---------------------|--------|----------------------------|--------------------|--------------------|-----------|-----------------|---------------|------|
| | | | m ₁ (g) | m ₂ (g) | m ₃ (g) | | | | |
| T _{Marmande} -2-3-Maia | Maduro | 1 | 49,1440 | 52,6680 | 49,2751 | 96,28 | 96,67 | 0,82 | 0,84 |
| | | 2 | 45,7210 | 50,1469 | 45,8269 | 97,61 | | | |
| | | 3 | 49,2751 | 53,2598 | 49,4296 | 96,12 | | | |
| T _{Roma VF} -2-2-Maia | Amadurecer | 1 | 55,1454 | 65,1401 | 55,8349 | 93,10 | 93,08 | 0,29 | 0,31 |
| | | 2 | 52,6853 | 63,8883 | 53,4941 | 92,78 | | | |
| | | 3 | 51,3361 | 62,2156 | 52,0589 | 93,36 | | | |
| T _{Roma VF} -2-3-Maia | Maduro | 1 | 53,5359 | 59,7250 | 53,8697 | 94,61 | 94,26 | 0,92 | 0,98 |
| | | 2 | 52,2546 | 60,9861 | 52,6954 | 94,95 | | | |
| | | 3 | 49,5687 | 56,6681 | 50,0508 | 93,21 | | | |
| T _{Rama} -5-3-Almería | Maduro | 1 | 48,2371 | 56,3600 | 48,5382 | 96,29 | 96,32 | 0,13 | 0,13 |
| | | 2 | 49,1423 | 55,8520 | 49,3966 | 96,21 | | | |
| | | 3 | 47,0285 | 58,2569 | 47,4254 | 96,47 | | | |
| T _{Rama} -2-1-Maia | Verde | 1 | 48,3470 | 54,5534 | 48,7279 | 93,86 | 93,91 | 0,39 | 0,42 |
| | | 2 | 54,0093 | 60,9623 | 54,4043 | 94,32 | | | |
| | | 3 | 52,2564 | 61,5825 | 52,8589 | 93,54 | | | |
| T _{Rama} -2-2-Maia | Amadurecer | 1 | 47,9745 | 55,5128 | 48,3491 | 95,03 | 95,59 | 0,63 | 0,65 |
| | | 2 | 50,8574 | 57,1572 | 51,1423 | 95,48 | | | |
| | | 3 | 49,5871 | 60,2514 | 49,9853 | 96,27 | | | |
| T _{Rama} -2-3-Maia | Maduro | 1 | 51,6418 | 58,7362 | 51,9683 | 95,40 | 95,57 | 0,36 | 0,37 |
| | | 2 | 58,0625 | 65,1989 | 58,3953 | 95,34 | | | |
| | | 3 | 52,2157 | 64,0021 | 52,6891 | 95,98 | | | |
| T _{Rama} -5-1-Norte de Portugal | Verde | 1 | 54,0245 | 63,2800 | 54,6933 | 92,77 | 93,32 | 0,60 | 0,64 |
| | | 2 | 56,8143 | 67,7195 | 57,4732 | 93,96 | | | |
| | | 3 | 48,5684 | 62,2540 | 49,4951 | 93,23 | | | |

Continua

| Amostra | Estado de maturação | Ensaio | Antes de colocar na estufa | | Após o aquecimento | %Humidade | %Humidade média | Desvio padrão | % CV |
|--|---------------------|--------|----------------------------|--------------------|--------------------|-----------|-----------------|---------------|------|
| | | | m ₁ (g) | m ₂ (g) | m ₃ (g) | | | | |
| T _{Rama} -5-2-Norte de Portugal | Amadurecer | 1 | 47,9709 | 58,2945 | 48,4335 | 95,52 | 95,70 | 0,38 | 0,40 |
| | | 2 | 50,1507 | 58,9154 | 50,5498 | 95,45 | | | |
| | | 3 | 50,2512 | 59,2514 | 50,5984 | 96,14 | | | |
| T _{Rama} -5-3-Norte de Portugal | Maduro | 1 | 54,0038 | 59,9810 | 54,2569 | 95,77 | 95,65 | 0,44 | 0,46 |
| | | 2 | 48,3425 | 55,6800 | 48,6347 | 96,02 | | | |
| | | 3 | 59,5871 | 68,1482 | 60,0010 | 95,17 | | | |
| T _{Rama} -4-3-Coimbra | Maduro | 1 | 51,9640 | 63,6667 | 52,6329 | 94,28 | 94,39 | 0,41 | 0,43 |
| | | 2 | 48,3256 | 59,5965 | 48,9972 | 94,04 | | | |
| | | 3 | 51,2110 | 63,2510 | 51,8321 | 94,84 | | | |
| T _{Rama} -4-1-Póvoa de Varzim | Verde | 1 | 48,2405 | 59,1786 | 48,9858 | 93,19 | 92,54 | 1,55 | 1,68 |
| | | 2 | 45,7193 | 53,9547 | 46,4801 | 90,76 | | | |
| | | 3 | 46,8480 | 62,2589 | 47,8250 | 93,66 | | | |
| T _{Rama} -4-2-Póvoa de Varzim | Amadurecer | 1 | 54,0270 | 64,5192 | 54,6935 | 93,65 | 94,10 | 0,63 | 0,67 |
| | | 2 | 47,9746 | 56,4183 | 48,4949 | 93,84 | | | |
| | | 3 | 52,3261 | 62,5541 | 52,8561 | 94,82 | | | |
| T _{Rama} -4-3-Póvoa de Varzim | Maduro | 1 | 54,7591 | 62,5369 | 55,1643 | 94,79 | 94,31 | 0,69 | 0,73 |
| | | 2 | 53,5368 | 64,1952 | 54,1111 | 94,61 | | | |
| | | 3 | 54,2513 | 63,2130 | 54,8325 | 93,51 | | | |
| T _{Rama} -6-2-Portugal | Amadurecer | 1 | 45,7220 | 56,8235 | 46,2150 | 95,56 | 95,84 | 0,48 | 0,50 |
| | | 2 | 52,4667 | 61,5965 | 52,8706 | 95,58 | | | |
| | | 3 | 46,0589 | 62,5482 | 46,6528 | 96,40 | | | |
| T _{Rama} -6-3-Portugal | Maduro | 1 | 55,4234 | 66,8457 | 56,0908 | 94,16 | 94,59 | 0,79 | 0,83 |
| | | 2 | 50,5155 | 62,8099 | 51,2393 | 94,11 | | | |
| | | 3 | 51,2587 | 63,2541 | 51,7986 | 95,50 | | | |

Continua

| Amostra | Estado de maturação | Ensaio | Antes de colocar na estufa | | Após o aquecimento | %Humidade | %Humidade média | Desvio padrão | % CV |
|--|---------------------|--------|----------------------------|--------------------|--------------------|-----------|-----------------|---------------|------|
| | | | m ₁ (g) | m ₂ (g) | m ₃ (g) | | | | |
| T _{Cherry-5-2-Andaluzia} | Amadurecer | 1 | 54,7856 | 63,5237 | 55,2816 | 94,32 | 94,73 | 1,38 | 1,46 |
| | | 2 | 54,7600 | 62,7144 | 55,0573 | 96,26 | | | |
| | | 3 | 49,2561 | 61,2546 | 50,0250 | 93,59 | | | |
| T _{Cherry-5-3-Andaluzia} | Maduro | 1 | 53,8800 | 63,2960 | 54,1894 | 96,71 | 96,30 | 0,68 | 0,70 |
| | | 2 | 53,5353 | 61,2288 | 53,8800 | 95,52 | | | |
| | | 3 | 52,1025 | 62,5840 | 52,4523 | 96,66 | | | |
| T _{Coração de Boi-4-1-Coimbra} | Verde | 1 | 60,3567 | 73,2504 | 61,1258 | 94,04 | 93,75 | 0,33 | 0,35 |
| | | 2 | 55,4184 | 71,8962 | 56,4366 | 93,82 | | | |
| | | 3 | 52,2044 | 61,8451 | 52,8415 | 93,39 | | | |
| T _{Coração de Boi-4-2-Coimbra} | Amadurecer | 1 | 53,8764 | 65,7576 | 54,4294 | 95,35 | 95,03 | 0,64 | 0,68 |
| | | 2 | 50,8548 | 59,9766 | 51,2699 | 95,45 | | | |
| | | 3 | 52,2253 | 63,2564 | 52,8556 | 94,29 | | | |
| T _{Coração de Boi-4-3-Coimbra} | Maduro | 1 | 51,8640 | 63,5667 | 52,1329 | 97,70 | 95,92 | 2,16 | 2,25 |
| | | 2 | 48,2045 | 59,5965 | 48,5972 | 96,55 | | | |
| | | 3 | 52,3641 | 65,3256 | 53,2041 | 93,52 | | | |
| T _{Coração de Boi-1-1-V.N.Gaia} | Verde | 1 | 50,1624 | 58,3961 | 50,6292 | 94,33 | 93,30 | 1,01 | 1,09 |
| | | 2 | 58,0679 | 67,0038 | 58,6694 | 93,27 | | | |
| | | 3 | 59,2513 | 65,2560 | 59,7135 | 92,30 | | | |
| T _{Coração de Boi-1-2-V.N.Gaia} | Amadurecer | 1 | 50,9154 | 59,5957 | 51,5456 | 92,74 | 93,43 | 1,64 | 1,76 |
| | | 2 | 50,8568 | 58,2417 | 51,4300 | 92,24 | | | |
| | | 3 | 48,2560 | 66,2899 | 49,1027 | 95,31 | | | |
| T _{Coração de Boi-1-3-V.N.Gaia} | Maduro | 1 | 53,8853 | 59,1800 | 54,0257 | 97,35 | 95,86 | 2,29 | 2,39 |
| | | 2 | 51,8664 | 57,8673 | 52,0461 | 97,01 | | | |
| | | 3 | 52,5262 | 58,2563 | 52,9143 | 93,23 | | | |

Continua

| Amostra | Estado de maturação | Ensaio | Antes de colocar na estufa | | Após o aquecimento | %Humidade | %Humidade média | Desvio padrão | % CV |
|-----------------------------------|---------------------|--------|----------------------------|--------------------|--------------------|-----------|-----------------|---------------|------|
| | | | m ₁ (g) | m ₂ (g) | m ₃ (g) | | | | |
| T _{Chucha} -4-1-Coimbra | Verde | 1 | 52,6711 | 60,6210 | 53,1462 | 94,02 | 93,48 | 0,97 | 1,04 |
| | | 2 | 52,4578 | 62,2955 | 53,0425 | 94,06 | | | |
| | | 3 | 52,5687 | 61,0255 | 53,2147 | 92,36 | | | |
| T _{Chucha} -4-2-Coimbra | Amadurecer | 1 | 50,1550 | 60,1012 | 50,7640 | 93,88 | 93,79 | 0,14 | 0,15 |
| | | 2 | 54,7776 | 62,6340 | 55,2594 | 93,87 | | | |
| | | 3 | 51,2475 | 62,3666 | 51,9561 | 93,63 | | | |
| T _{Chucha} -4-3-Coimbra | Maduro | 1 | 55,1391 | 62,8747 | 55,5689 | 94,44 | 94,24 | 0,51 | 0,54 |
| | | 2 | 51,5682 | 58,4192 | 52,0022 | 93,67 | | | |
| | | 3 | 51,1112 | 61,2658 | 51,6582 | 94,61 | | | |
| T _{Chucha} -6-3-Portugal | Maduro | 1 | 56,1309 | 66,4101 | 56,6214 | 95,23 | 94,94 | 0,31 | 0,33 |
| | | 2 | 47,9968 | 59,1431 | 48,5572 | 94,97 | | | |
| | | 3 | 52,0012 | 61,2784 | 52,5014 | 94,61 | | | |
| B-V.N.Gaia | | 1 | 51,8107 | 62,8938 | 54,2380 | 78,10 | 78,98 | 0,80 | 1,01 |
| | | 2 | 49,8267 | 60,1890 | 51,9852 | 79,17 | | | |
| | | 3 | 48,9852 | 60,9807 | 51,4249 | 79,66 | | | |
| Cb-V.N.Gaia | | 1 | 50,5005 | 63,9314 | 51,6237 | 91,64 | 91,54 | 0,27 | 0,29 |
| | | 2 | 52,0182 | 65,1624 | 53,1036 | 91,74 | | | |
| | | 3 | 51,9845 | 64,2937 | 53,0637 | 91,23 | | | |
| Ce-V.N.Gaia | | 1 | 50,9013 | 56,1012 | 51,5525 | 87,48 | 87,83 | 0,76 | 0,86 |
| | | 2 | 56,1154 | 60,4544 | 56,6661 | 87,31 | | | |
| | | 3 | 51,2033 | 55,2032 | 51,6553 | 88,70 | | | |
| R-V.N.Gaia | | 1 | 48,3465 | 54,6523 | 49,6423 | 79,45 | 80,17 | 0,67 | 0,84 |
| | | 2 | 53,6784 | 62,8954 | 55,4976 | 80,26 | | | |
| | | 3 | 52,3474 | 61,3423 | 54,0754 | 80,79 | | | |

Continua

| Amostra (Marca) | Ensaio | Antes de colocar na estufa | | Após o aquecimento | %Humidade | %Humidade média | Desvio padrão | % CV |
|--|--------|----------------------------|--------------------|--------------------|-----------|--------------------|------------------|-------|
| | | m ₁ (g) | m ₂ (g) | m ₃ (g) | | | | |
| Tomate pelado (compal) | 1 | 51,6390 | 60,8773 | 52,2033 | 93,89 | 93,91 | 0,23 | 0,25 |
| | 2 | 54,7803 | 67,2057 | 55,5644 | 93,69 | | | |
| | 3 | 53,2580 | 68,2561 | 54,1352 | 94,15 | | | |
| Polpa de tomate (compal) | 1 | 48,2364 | 54,5640 | 48,9433 | 88,83 | 88,54 | 0,73 | 0,82 |
| | 2 | 55,1478 | 62,5166 | 55,9530 | 89,07 | | | |
| | 3 | 49,5680 | 61,2387 | 51,0025 | 87,71 | | | |
| Ketchup (calvé) | 1 | 53,8776 | 58,9373 | 55,5332 | 67,28 | 67,08 | 0,72 | 1,08 |
| | 2 | 49,1413 | 57,4312 | 51,8211 | 67,67 | | | |
| | 3 | 45,6900 | 56,5889 | 49,3656 | 66,28 | | | |
| Atum em tomate (Pescamar-Espanha) | 1 | 48,3442 | 54,9722 | 49,8878 | 76,71 | 75,77 | 1,38 | 1,82 |
| | 2 | 53,5335 | 62,9211 | 55,9561 | 74,19 | | | |
| | 3 | 52,1256 | 61,1590 | 54,2561 | 76,42 | | | |
| Sardinhas em tomate (Albo-Espanha) | 1 | 47,9761 | 52,4741 | 51,0424 | 31,83 | 32,75 | 3,31 | 10,12 |
| | 2 | 50,0554 | 53,7714 | 52,4176 | 36,43 | | | |
| | 3 | 49,5674 | 51,9513 | 51,2361 | 30,00 | | | |
| Sardinhas em tomate (Ramirez-Portugal) | 1 | 50,1615 | 53,1255 | 50,6739 | 82,71 | 82,96 | 1,16 | 1,40 |
| | 2 | 60,3584 | 67,3419 | 61,4599 | 84,23 | | | |
| | 3 | 60,2566 | 65,6980 | 61,2387 | 81,95 | | | |
| Solo do tipo I | 1 | 55,1446 | 65,1658 | 65,1628 | 0,03 | 0,03 | 0,00 | |
| | 2 | 54,7584 | 64,7703 | 64,7673 | 0,03 | | | |
| | 3 | 47,9947 | 58,0031 | 57,9997 | 0,03 | | | |
| Solo do tipo II | 1 | 53,8822 | 63,8922 | 62,4118 | 14,79 | 15,21 | 0,38 | 2,47 |
| | 2 | 51,8252 | 61,8900 | 60,3463 | 15,34 | | | |
| | 3 | 53,5351 | 63,5416 | 61,9898 | 15,51 | | | |

Tab. VIII-3: Média, desvio padrão e % CV para todos os ensaios efectuados nos solos, na caracterização das diferentes amostras em termos de percentagem de densidade a granel.

| Amostra | Ensaio | m _{proveta} (g) | m _{proveta+amostra} (g) | Volume da proveta (mL) | Densidade a granel (g/mL) | Densidade a granel Média (g/mL) | Desvio padrão | % CV |
|-----------------|--------|-----------------------------|-------------------------------------|---------------------------|------------------------------|------------------------------------|---------------|------|
| Solo do tipo I | 1 | 59,05185 | 100,9032 | 25,00 | 1,67 | 1,67 | 0,02 | 1,22 |
| | 2 | 63,4579 | 105,4925 | 25,00 | 1,68 | | | |
| | 3 | 60,5631 | 101,6384 | 25,00 | 1,64 | | | |
| Solo do tipo II | 1 | 57,5863 | 79,03378 | 25,00 | 0,86 | 0,88 | 0,02 | 1,80 |
| | 2 | 63,6785 | 85,7853 | 25,00 | 0,88 | | | |
| | 3 | 59,8764 | 82,0268 | 25,00 | 0,89 | | | |

Tab. VIII-4: Média, desvio padrão e % CV para todos os ensaios efectuados nos solos, na caracterização das diferentes amostras em termos do teor natural de matéria orgânica.

| Amostra | Volume da titulação Ensaio em branco (mL) | Ensaio | Volume da titulação Ensaio da amostra (mL) | Massa de amostra (g) | %f _{co} | %TNMO | %TNMO Média | Desvio Padrão | % CV |
|-----------------|---|--------|--|-------------------------|------------------|-------|-------------|---------------|-------|
| Solo do tipo I | 32,80* | 1 | 32,50 | 0,1044 | 0,345 | 0,59 | 0,81 | 0,11 | 14,10 |
| | | 2 | 32,25 | 0,1512 | 0,437 | 0,75 | | | |
| | | 3 | 32,00 | 0,2032 | 0,472 | 0,81 | | | |
| | | 4 | 31,50 | 0,2538 | 0,615 | 1,06 | | | |
| Solo do tipo II | 32,88* | 1 | 30,95 | 0,1033 | 2,242 | 3,87 | 3,69 | 0,21 | 5,56 |
| | | 2 | 30,30 | 0,1516 | 2,042 | 3,52 | | | |
| | | 3 | 29,40 | 0,2059 | 2,037 | 3,51 | | | |
| | | 4 | 28,10 | 0,2575 | 2,228 | 3,84 | | | |

* média de dois ensaios efectuados para o ensaio em branco

Anexo IX - Tempo de retenção, tempo de retenção médio, áreas, áreas médias, desvio padrão e % CV para todas as injecções efectuadas nos onze níveis de concentrações utilizadas na construção da curva de calibração

Tab. IX-1: Tempos de retenção dos pesticidas em estudo na construção da curva de calibração para os onze níveis de concentração.

| Ponto | Concentração (µ/L) | tr (minutos) | | | | | | | | |
|----------------|--------------------|--------------|----------|--------------|-------------|--------------|---------|-------------|--------|----------|
| | | Carbofurão | Carbaril | Etiofencarbe | Monolinurão | Metobromurão | Linurão | Clorprofame | EPTC | Butilato |
| P ₁ | 10,0 | 8,550 | 9,800 | 10,803 | 11,338 | 12,899 | 17,683 | 19,384 | 21,333 | 23,633 |
| | | 8,700 | 9,861 | 10,767 | 11,391 | 12,900 | 17,667 | 19,403 | 21,290 | 23,633 |
| | | 8,650 | 9,855 | 10,833 | 11,357 | 12,864 | 17,703 | 19,403 | 21,250 | 23,630 |
| P ₂ | 30,0 | 8,573 | 9,797 | 10,631 | 11,295 | 12,802 | 17,657 | 19,361 | 21,250 | 23,617 |
| | | 8,598 | 9,809 | 10,722 | 11,309 | 12,839 | 17,658 | 19,367 | 21,250 | 23,610 |
| | | 8,582 | 9,821 | 10,683 | 11,354 | 12,879 | 17,672 | 19,376 | 21,267 | 23,633 |
| P ₃ | 50,0 | 8,566 | 9,811 | 10,644 | 11,329 | 12,829 | 17,669 | 19,368 | 21,267 | 23,636 |
| | | 8,644 | 9,875 | 10,747 | 11,407 | 12,932 | 17,721 | 19,409 | 21,300 | 23,636 |
| | | 8,624 | 9,858 | 10,710 | 11,390 | 12,886 | 17,695 | 19,386 | 21,314 | 23,628 |
| P ₄ | 75,0 | 8,593 | 9,815 | 10,650 | 11,345 | 12,870 | 17,674 | 19,374 | 21,296 | 23,583 |
| | | 8,577 | 9,797 | 10,659 | 11,309 | 12,818 | 17,646 | 19,356 | 21,250 | 23,574 |
| | | 8,561 | 9,795 | 10,587 | 11,318 | 12,831 | 17,650 | 19,367 | 21,283 | 23,505 |
| P ₅ | 100 | 8,593 | 9,826 | 10,682 | 11,396 | 12,869 | 17,667 | 19,375 | 21,286 | 23,574 |
| | | 8,594 | 9,806 | 10,645 | 11,325 | 12,808 | 17,649 | 19,366 | 21,277 | 23,567 |
| | | 8,590 | 9,811 | 10,661 | 11,329 | 12,847 | 17,654 | 19,372 | 21,281 | 23,561 |
| P ₆ | 200 | 8,598 | 9,808 | 10,659 | 11,327 | 12,840 | 17,652 | 19,367 | 21,277 | 23,560 |
| | | 8,599 | 9,810 | 10,664 | 11,328 | 12,840 | 17,651 | 19,368 | 21,276 | 21,569 |
| | | 8,540 | 9,812 | 10,671 | 11,341 | 12,834 | 17,659 | 19,371 | 21,269 | 21,560 |
| P ₇ | 250 | 8,599 | 9,811 | 10,653 | 11,327 | 12,836 | 17,655 | 19,374 | 21,289 | 23,586 |
| | | 8,612 | 9,821 | 10,679 | 11,351 | 12,876 | 17,663 | 19,370 | 21,276 | 23,563 |
| | | 8,600 | 9,827 | 10,680 | 11,342 | 12,841 | 17,659 | 19,376 | 21,270 | 23,573 |

Continua

| Ponto | Concentração (µ/L) | tr (minutos) | | | | | | | | |
|-----------------|-----------------------|--------------|----------|--------------|-------------|--------------|---------|-------------|--------|----------|
| | | Carbofurão | Carbaril | Etiofencarbe | Monolinurão | Metobromurão | Linurão | Clorprofame | EPTC | Butilato |
| P ₈ | 300 | 8,550 | 9,823 | 10,659 | 11,333 | 12,857 | 17,661 | 19,365 | 21,281 | 23,574 |
| | | 8,533 | 9,817 | 10,677 | 11,350 | 12,876 | 17,659 | 19,379 | 21,270 | 23,563 |
| | | 8,541 | 9,812 | 10,610 | 11,356 | 12,862 | 17,670 | 19,359 | 21,275 | 23,569 |
| P ₉ | 350 | 8,500 | 9,853 | 10,708 | 11,381 | 12,909 | 17,694 | 19,399 | 21,300 | 23,590 |
| | | 8,583 | 9,851 | 10,705 | 11,381 | 12,901 | 17,700 | 19,405 | 21,308 | 23,601 |
| | | 8,537 | 9,850 | 10,700 | 11,389 | 12,912 | 17,721 | 19,413 | 21,326 | 23,614 |
| P ₁₀ | 400 | 8,645 | 9,871 | 10,730 | 11,407 | 12,937 | 17,715 | 19,413 | 21,312 | 23,597 |
| | | 8,647 | 9,874 | 10,729 | 11,403 | 12,926 | 17,689 | 19,392 | 21,294 | 23,585 |
| | | 8,640 | 9,865 | 10,734 | 11,400 | 12,931 | 17,701 | 19,405 | 21,303 | 23,870 |
| P ₁₁ | 500 | 8,651 | 9,870 | 10,726 | 11,396 | 12,922 | 17,701 | 19,404 | 21,306 | 23,598 |
| | | 8,617 | 9,876 | 10,740 | 11,414 | 12,945 | 17,724 | 19,420 | 21,320 | 23,607 |
| | | 8,643 | 9,864 | 10,744 | 11,401 | 12,931 | 17,713 | 19,423 | 21,312 | 23,592 |

| | | | | | | | | | |
|------------------------------------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|
| Média | 8,60 | 9,83 | 10,69 | 11,36 | 12,87 | 17,68 | 19,38 | 21,29 | 23,48 |
| Desvio padrão (tempos de retenção) | 0,043 | 0,027 | 0,053 | 0,035 | 0,041 | 0,025 | 0,020 | 0,022 | 0,49 |
| CV (%) | 0,51 | 0,28 | 0,49 | 0,31 | 0,32 | 0,14 | 0,10 | 0,11 | 2,1 |

Tab. IX-2: Áreas, área média, desvio padrão e % CV, nas três injeções para as concentrações injectadas do pesticida carbofurão.

| | | Concentração (µg/L) | | | | | | | | | | |
|----------------------|-------------|---------------------|-------|-------|-------|-------|--------|--------|--------|--------|--------|--------|
| Composto | Carbofurão | 10,0 | 30,0 | 50,0 | 75,0 | 100 | 200 | 250 | 300 | 350 | 400 | 500 |
| Áreas | 1ª Injecção | 863 | 15866 | 21821 | 32218 | 70731 | 104908 | 126548 | 160550 | 189639 | 220098 | 251701 |
| | 2ª Injecção | 735 | 15091 | 22161 | 31556 | 69726 | 108800 | 130474 | 162230 | 188041 | 217541 | 250527 |
| | 3ª Injecção | 881 | 15099 | 21639 | 30948 | 69234 | 106547 | 127964 | 163891 | 185012 | 219800 | 251478 |
| Média | | 826 | 15352 | 21874 | 31574 | 69897 | 106752 | 128329 | 162224 | 187564 | 219146 | 251235 |
| Desvio padrão (área) | | 80 | 445 | 265,0 | 635,0 | 763,0 | 1954 | 1988 | 1671 | 2350 | 1398 | 623 |
| CV (%) | | 9,6 | 2,9 | 1,2 | 2,0 | 1,1 | 1,8 | 1,5 | 1,0 | 1,3 | 0,64 | 0,25 |

Tab. IX-3: Áreas, área média, desvio padrão e % CV, nas três injeções para as concentrações injectadas do pesticida carbaril.

| | | Concentração (µg/L) | | | | | | | | | | |
|----------------------|-------------|------------------------|-------|-------|-------|-------|--------|--------|--------|--------|--------|--------|
| Composto | Carbaril | 10,0 | 30,0 | 50,0 | 75,0 | 100 | 200 | 250 | 300 | 350 | 400 | 500 |
| Áreas | 1ª Injecção | 8893 | 26107 | 43167 | 63248 | 91567 | 179508 | 228137 | 265959 | 322761 | 359366 | 461098 |
| | 2ª Injecção | 7805 | 26235 | 41433 | 65045 | 90202 | 176778 | 230384 | 267683 | 320620 | 362748 | 465184 |
| | 3ª Injecção | 8905 | 25008 | 42996 | 63501 | 89332 | 178567 | 229872 | 266890 | 322918 | 360496 | 464218 |
| Média | | 8534 | 25783 | 42532 | 63931 | 90367 | 178284 | 229464 | 266844 | 322100 | 360870 | 463500 |
| Desvio padrão (área) | | 632 | 675 | 956 | 973 | 1127 | 1387 | 1178 | 863 | 1284 | 1722 | 2136 |
| CV (%) | | 7,4 | 2,6 | 2,2 | 1,5 | 1,2 | 0,78 | 0,51 | 0,32 | 0,40 | 0,48 | 0,46 |

Tab. IX-4: Áreas, área média, desvio padrão e % CV, nas três injeções para as concentrações injectadas do pesticida etiofencarbe.

| | | Concentração (µg/L) | | | | | | | | | | |
|----------------------|--------------|------------------------|------|-------|-------|-------|-------|-------|--------|--------|--------|--------|
| Composto | Etiofencarbe | 10,0 | 30,0 | 50,0 | 75,0 | 100 | 200 | 250 | 300 | 350 | 400 | 500 |
| Áreas | 1ª Injecção | 406 | 9758 | 18919 | 27767 | 41200 | 80949 | 99335 | 119967 | 134980 | 150190 | 212309 |
| | 2ª Injecção | 430 | 9331 | 19220 | 26343 | 42010 | 79685 | 98736 | 124417 | 130525 | 148692 | 210153 |
| | 3ª Injecção | 500 | 9717 | 19828 | 27248 | 42567 | 79832 | 97710 | 120982 | 132580 | 149741 | 208278 |
| Média | | 445 | 9602 | 19322 | 27119 | 41926 | 80155 | 98594 | 121789 | 132695 | 149541 | 210247 |
| Desvio padrão (área) | | 49 | 236 | 463 | 721 | 687 | 691 | 822 | 2332 | 2230 | 769 | 2017 |
| CV (%) | | 11 | 2,5 | 2,4 | 2,7 | 1,6 | 0,86 | 0,83 | 1,9 | 1,7 | 0,51 | 0,96 |

Tab. IX-5: Áreas, área média, desvio padrão e % CV, nas três injeções para as concentrações injectadas do pesticida monolinurão.

| | | Concentração (µg/L) | | | | | | | | | | |
|----------------------|-------------|------------------------|------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|--------|--------|
| Composto | Monolinurão | 10,0 | 30,0 | 50,0 | 75,0 | 100 | 200 | 250 | 300 | 350 | 400 | 500 |
| Áreas | 1ª Injecção | 2346 | 6596 | 12784 | 15936 | 31220 | 60019 | 71123 | 85356 | 96848 | 110738 | 139099 |
| | 2ª Injecção | 2653 | 6732 | 12495 | 15960 | 32443 | 59642 | 73100 | 83668 | 94853 | 111669 | 137305 |
| | 3ª Injecção | 2431 | 6114 | 12228 | 16419 | 31891 | 60732 | 72456 | 84589 | 95679 | 111760 | 138097 |
| Média | | 2477 | 6481 | 12502 | 16105 | 31851 | 60131 | 72226 | 84538 | 95793 | 111389 | 138167 |
| Desvio padrão (área) | | 159 | 325 | 278 | 272 | 612 | 554 | 1008 | 845 | 1002 | 566 | 899 |
| CV (%) | | 6,4 | 5,0 | 2,2 | 1,7 | 1,9 | 0,92 | 1,4 | 1,0 | 1,0 | 0,51 | 0,65 |

Tab. IX-6: Áreas, área média, desvio padrão e % CV, nas três injeções para as concentrações injectadas do pesticida metobromurão.

| | | Concentração (µg/L) | | | | | | | | | | |
|----------------------|--------------|------------------------|------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|--------|
| Composto | Metobromurão | 10,0 | 30,0 | 50,0 | 75,0 | 100 | 200 | 250 | 300 | 350 | 400 | 500 |
| Áreas | 1ª Injecção | 2940 | 8014 | 11933 | 15928 | 23710 | 47856 | 59031 | 66602 | 82488 | 91002 | 114500 |
| | 2ª Injecção | 2461 | 7371 | 12431 | 16042 | 23263 | 46119 | 59418 | 69109 | 81049 | 91154 | 116735 |
| | 3ª Injecção | 2831 | 7624 | 12662 | 15636 | 23314 | 47630 | 58591 | 68456 | 81813 | 90289 | 115678 |
| Média | | 2744 | 7670 | 12342 | 15869 | 23429 | 47202 | 59013 | 68056 | 81783 | 90815 | 115638 |
| Desvio padrão (área) | | 251 | 324 | 373 | 209 | 245 | 944 | 414 | 1301 | 720 | 462 | 1118 |
| CV (%) | | 9,1 | 4,2 | 3,0 | 1,3 | 1,0 | 2,0 | 0,70 | 1,9 | 0,88 | 0,51 | 0,97 |

Tab. IX-7: Áreas, área média, desvio padrão e % CV, nas três injeções para as concentrações injectadas do pesticida linurão.

| | | Concentração (µg/L) | | | | | | | | | | |
|----------------------|-------------|------------------------|------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|--------|--------|
| Composto | Linurão | 10,0 | 30,0 | 50,0 | 75,0 | 100 | 200 | 250 | 300 | 350 | 400 | 500 |
| Áreas | 1ª Injecção | 2586 | 7630 | 13165 | 19822 | 28886 | 55360 | 71115 | 85139 | 98865 | 116116 | 144453 |
| | 2ª Injecção | 2460 | 8374 | 13357 | 19457 | 29146 | 55895 | 71627 | 86347 | 99728 | 116558 | 145919 |
| | 3ª Injecção | 2904 | 7899 | 12869 | 20070 | 29890 | 55700 | 70459 | 86569 | 98776 | 115608 | 145622 |
| Média | | 2650 | 7968 | 13130 | 19783 | 29307 | 55652 | 71067 | 86018 | 99123 | 116094 | 145331 |
| Desvio padrão (área) | | 229 | 377 | 246 | 308 | 521 | 271 | 585 | 770 | 526 | 475 | 775 |
| CV (%) | | 8,6 | 4,7 | 1,9 | 1,6 | 1,8 | 0,49 | 0,82 | 0,89 | 0,53 | 0,41 | 0,53 |

Tab. IX-8: Áreas, área média, desvio padrão e % CV, nas três injeções para as concentrações injectadas do pesticida clorprofame.

| | | Concentração (µg/L) | | | | | | | | | | |
|----------------------|-------------|------------------------|------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|--------|
| Composto | Clorprofame | 10,0 | 30,0 | 50,0 | 75,0 | 100 | 200 | 250 | 300 | 350 | 400 | 500 |
| Áreas | 1ª Injecção | 1914 | 6488 | 12619 | 16606 | 26188 | 48933 | 59118 | 68477 | 81394 | 94687 | 119951 |
| | 2ª Injecção | 2062 | 6800 | 12873 | 17133 | 25459 | 47481 | 59048 | 69301 | 81044 | 94551 | 118744 |
| | 3ª Injecção | 1693 | 6993 | 13545 | 17264 | 25678 | 48614 | 60130 | 67589 | 82356 | 93560 | 118678 |
| Média | | 1890 | 6760 | 13012 | 17001 | 25775 | 48343 | 59432 | 68456 | 81598 | 94266 | 119124 |
| Desvio padrão (área) | | 186 | 255 | 479 | 348 | 374 | 763 | 606 | 856 | 679 | 615 | 717 |
| CV (%) | | 9,8 | 3,8 | 3,7 | 2,0 | 1,5 | 1,6 | 1,0 | 1,3 | 0,83 | 0,65 | 0,60 |

Tab. IX-9: Áreas, área média, desvio padrão e % CV, nas três injeções para as concentrações injectadas do pesticida EPTC.

| | | Concentração (µg/L) | | | | | | | | | | |
|----------------------|-------------|------------------------|------|------|------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|
| Composto | EPTC | 10,0 | 30,0 | 50,0 | 75,0 | 100 | 200 | 250 | 300 | 350 | 400 | 500 |
| Áreas | 1ª Injecção | 892 | 3522 | 6323 | 8377 | 11283 | 24028 | 31598 | 37617 | 43917 | 52178 | 65566 |
| | 2ª Injecção | 957 | 3694 | 6042 | 8631 | 11964 | 25217 | 31990 | 38065 | 45077 | 51521 | 64338 |
| | 3ª Injecção | 1611 | 3788 | 5744 | 8215 | 11579 | 24199 | 30798 | 37871 | 44569 | 51252 | 64891 |
| Média | | 1153 | 3668 | 6036 | 8408 | 11609 | 24481 | 31462 | 37851 | 44521 | 51650 | 64932 |
| Desvio padrão (área) | | 398 | 135 | 290 | 210 | 341 | 643 | 608 | 225 | 581 | 476 | 615 |
| CV (%) | | 34 | 3,7 | 4,8 | 2,5 | 2,9 | 2,6 | 1,9 | 0,59 | 1,3 | 0,92 | 0,95 |

Tab. IX-10: Áreas, área média, desvio padrão e % CV, nas três injeções para as concentrações injectadas do pesticida butilato.

| | | Concentração (µg/L) | | | | | | | | | | |
|----------------------|-------------|------------------------|------|------|------|------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|
| Composto | Butilato | 10,0* | 30,0 | 50,0 | 75,0 | 100 | 200 | 250 | 300 | 350 | 400 | 500 |
| Áreas | 1ª Injecção | 2574 | 1002 | 2005 | 7390 | 8615 | 18480 | 25913 | 29158 | 33929 | 38258 | 50480 |
| | 2ª Injecção | 1593 | 823 | 1710 | 7634 | 8127 | 19148 | 25642 | 28940 | 33559 | 38627 | 51015 |
| | 3ª Injecção | 1071 | 916 | 1693 | 8427 | 8456 | 18780 | 26404 | 29761 | 32698 | 38901 | 50768 |
| Média | | 1746 | 914 | 1803 | 7817 | 8399 | 18803 | 25920 | 29286 | 33395 | 38595 | 50754 |
| Desvio padrão (área) | | 763 | 90 | 175 | 542 | 249 | 335 | 386 | 425 | 632 | 323 | 268 |
| CV (%) | | 43 | 9,8 | 9,7 | 6,9 | 3,0 | 1,8 | 1,5 | 1,5 | 1,9 | 0,84 | 0,53 |

*a curva de calibração foi traçada a partir da concentração 30,0 µg/L a 500 µg/L, uma vez que para 10,0 µg/L a percentagem de CV apresenta um desvio muito grande.

Anexo X - Validação estatística da curva de calibração

Tab. X-1: Cálculos dos valores médios necessários para a determinação de parâmetros de linearidade para o carbofurão.

| x_i | $x_{média}$ | y_i | n | a | b | \bar{y} | $\left(y_i - \bar{y}\right)^2$ | $(x_i - x_{média})$ | x_i^2 |
|-------|-------------|--------|----|--------|--------|-----------|--------------------------------|------------------------------|------------------|
| 10,0 | 205,91 | 826 | 11 | 428,06 | 525,41 | 5682 | 23585527 | 38380 | 100 |
| 30,0 | | 15352 | | | | 15762 | 168346 | 30944 | 900 |
| 50,0 | | 21874 | | | | 26271 | 19332143 | 24308 | 2500 |
| 75,0 | | 31574 | | | | 39406 | 61336308 | 17137 | 5625 |
| 100 | | 69897 | | | | 52541 | 301230736 | 11217 | 10000 |
| 200 | | 106752 | | | | 105082 | 27877787 | 34,92 | 40000 |
| 250 | | 128329 | | | | 131353 | 9143568 | 1944 | 62500 |
| 300 | | 162224 | | | | 157623 | 21166134 | 8853 | 90000 |
| 350 | | 187564 | | | | 183894 | 13472570 | 20762 | 122500 |
| 400 | | 219146 | | | | 210164 | 80682312 | 37671 | 160000 |
| 500 | | 251235 | | | | 262705,00 | 131553253 | 86489 | 250000 |
| | | | | | | | $\sum_i (y_i - \bar{y})^2$ | $\sum_i (x_i - x_{média})^2$ | $\sum_i (x_i)^2$ |
| | | | | | | | 664458685 | 277741 | 744125 |

Tab. X-2: Cálculos dos valores médios necessários para a determinação de parâmetros de linearidade para o carbaril.

| x_i | $x_{média}$ | y_i | n | a | b | \bar{y} | $\left(y_i - \bar{y}\right)^2$ | $(x_i - x_{média})$ | x_i^2 |
|-------|-------------|--------|----|----------|--------|-----------|--------------------------------|------------------------------|------------------|
| 10,0 | 205,91 | 8534 | 11 | -3343,00 | 922,29 | 5880 | 7046016 | 38380 | 100 |
| 30,0 | | 25783 | | | | 27669 | 3554607 | 30944 | 900 |
| 50,0 | | 42532 | | | | 46115 | 12834306 | 24308 | 2500 |
| 75,0 | | 63931 | | | | 69172 | 27461967 | 17137 | 5625 |
| 100 | | 90367 | | | | 92229 | 3467044 | 11217 | 10000 |
| 200 | | 178284 | | | | 184458 | 38114160 | 34,92 | 40000 |
| 250 | | 229464 | | | | 230573 | 1228033 | 1944 | 62500 |
| 300 | | 266844 | | | | 276687 | 96884649 | 8853 | 90000 |
| 350 | | 322100 | | | | 322802 | 492570 | 20762 | 122500 |
| 400 | | 360870 | | | | 368916 | 64738116 | 37671 | 160000 |
| 500 | | 463500 | | | | 461145 | 5546025 | 86489 | 250000 |
| | | | | | | | $\sum_i (y_i - \bar{y})^2$ | $\sum_i (x_i - x_{média})^2$ | $\sum_i (x_i)^2$ |
| | | | | | | | 261367494 | 277741 | 744125 |

Onde: y_i é a resposta do detector para um dado nível de concentração x_i ; n_i é o número de pontos utilizados na curva de calibração; \bar{y} - Valor correspondente estimado a partir da curva de calibração; a -ordenada na origem; e b -declive.

Tab. X-3: Cálculos dos valores médios necessários para a determinação de parâmetros de linearidade para o etiofencarbe.

| x_i | $x_{média}$ | y_i | n | a | b | \bar{y} | $\left(y_i - \bar{y}\right)^2$ | $(x_i - x_{média})$ | x_i^2 | | | | |
|-------|-------------|--------|----|----------|--------|-----------|--------------------------------|------------------------------|------------------|--|--|--|--|
| 10,0 | 205,91 | 445 | 11 | -2386,80 | 405,16 | 1665 | 1487912 | 38380 | 100 | | | | |
| 30,0 | | 9602 | | | | 12155 | 6516788 | 30944 | 900 | | | | |
| 50,0 | | 19322 | | | | 20258 | 875472 | 24308 | 2500 | | | | |
| 75,0 | | 27119 | | | | 30387 | 10677645 | 17137 | 5625 | | | | |
| 100 | | 41926 | | | | 40516 | 1987160 | 11217 | 10000 | | | | |
| 200 | | 80155 | | | | 81032 | 768544 | 34,92 | 40000 | | | | |
| 250 | | 98594 | | | | 101290 | 7270213 | 1944 | 62500 | | | | |
| 300 | | 121789 | | | | 121548 | 57920 | 8853 | 90000 | | | | |
| 350 | | 132695 | | | | 141806 | 83010321 | 20762 | 122500 | | | | |
| 400 | | 149541 | | | | 162064 | 156825529 | 37671 | 160000 | | | | |
| 500 | | 210247 | | | | 202580 | 58777778 | 86489 | 250000 | | | | |
| | | | | | | | $\sum_i (y_i - \bar{y})^2$ | $\sum_i (x_i - x_{média})^2$ | $\sum_i (x_i)^2$ | | | | |
| | | | | | | | 328255284 | 277741 | 744125 | | | | |

Tab. X-4: Cálculos dos valores médios necessários para a determinação de parâmetros de linearidade para o monolinurão.

| x_i | $x_{média}$ | y_i | n | a | b | \hat{y} | $\left(y_i - \bar{y}\right)^2$ | $(x_i - x_{média})$ | x_i^2 |
|-------|-------------|--------|----|---------|--------|-----------|--------------------------------|------------------------------|------------------|
| 10,0 | 205,91 | 2477 | 11 | -242,82 | 280,06 | 2557,78 | 6579 | 38380 | 100 |
| 30,0 | | 6481 | | | | 8401,80 | 3690753 | 30944 | 900 |
| 50,0 | | 12502 | | | | 14003,00 | 2252000 | 24308 | 2500 |
| 75,0 | | 16105 | | | | 21004,50 | 24005100 | 17137 | 5625 |
| 100 | | 31851 | | | | 28006,00 | 14786588 | 11217 | 10000 |
| 200 | | 60131 | | | | 56012,00 | 16966161 | 34,92 | 40000 |
| 250 | | 72226 | | | | 70015,00 | 4889995 | 1944 | 62500 |
| 300 | | 84538 | | | | 84018,00 | 270053 | 8853 | 90000 |
| 350 | | 95793 | | | | 98021,00 | 4962499 | 20762 | 122500 |
| 400 | | 111389 | | | | 112024,00 | 403225 | 37671 | 160000 |
| 500 | | 138167 | | | | 140030,00 | 3470769 | 86489 | 250000 |
| | | | | | | | $\sum_i (y_i - \bar{y})^2$ | $\sum_i (x_i - x_{média})^2$ | $\sum_i (x_i)^2$ |
| | | | | | | | 75703724 | 277741 | 744125 |

Onde: y_i é a resposta do detector para um dado nível de concentração x_i ; n_i é o número de pontos utilizados na curva de calibração; \bar{y} - Valor correspondente estimado a partir da curva de calibração; a - ordenada na origem; b - declive.

Tab. X-5: Cálculos dos valores médios necessários para a determinação de parâmetros de linearidade para o metobromurão.

| x_i | $x_{média}$ | y_i | n | a | b | \bar{y} | $\left(y_i - \bar{y}\right)^2$ | $(x_i - x_{média})$ | x_i^2 |
|-------|-------------|--------|----|--------|--------|-----------|--------------------------------|------------------------------|------------------|
| 10,0 | 205,91 | 2744 | 11 | 406,05 | 229,62 | 2702 | 1743 | 38380 | 100 |
| 30,0 | | 7670 | | | | 6887 | 610065 | 30944 | 900 |
| 50,0 | | 12342 | | | | 11481 | 741321 | 24308 | 2500 |
| 75,0 | | 15869 | | | | 17222 | 1830158 | 17137 | 5625 |
| 100 | | 23429 | | | | 22962 | 218089 | 11217 | 10000 |
| 200 | | 47202 | | | | 45924 | 1632432 | 34,92 | 40000 |
| 250 | | 59013 | | | | 57405 | 2586736 | 1944 | 62500 |
| 300 | | 68056 | | | | 68886 | 689453 | 8853 | 90000 |
| 350 | | 81783 | | | | 80367 | 2006000 | 20762 | 122500 |
| 400 | | 90815 | | | | 91848 | 1067089 | 37671 | 160000 |
| 500 | | 115638 | | | | 114810 | 685032 | 86489 | 250000 |
| | | | | | | | $\sum_i (y_i - \bar{y})^2$ | $\sum_i (x_i - x_{média})^2$ | $\sum_i (x_i)^2$ |
| | | | | | | | 12068119 | 277741 | 744125 |

Tab. X-6: Cálculos dos valores médios necessários para a determinação de parâmetros de linearidade para o linurão.

| x_i | $x_{média}$ | y_i | n | a | b | \bar{y} | $\left(y_i - \bar{y}\right)^2$ | $(x_i - x_{média})$ | x_i^2 |
|-------|-------------|--------|----|----------|--------|-----------|--------------------------------|------------------------------|------------------|
| 10,0 | 205,91 | 2650 | 11 | -1158,80 | 290,89 | 1750 | 809820 | 38380 | 100 |
| 30,0 | | 7968 | | | | 8727 | 576132 | 30944 | 900 |
| 50,0 | | 13130 | | | | 14545 | 1999867 | 24308 | 2500 |
| 75,0 | | 19783 | | | | 21817 | 4136139 | 17137 | 5625 |
| 100 | | 29307 | | | | 29089 | 47669 | 11217 | 10000 |
| 200 | | 55652 | | | | 58178 | 6382360 | 34,92 | 40000 |
| 250 | | 71067 | | | | 72723 | 2740680 | 1944 | 62500 |
| 300 | | 86018 | | | | 87267 | 1559168 | 8853 | 90000 |
| 350 | | 99123 | | | | 101812 | 7228032 | 20762 | 122500 |
| 400 | | 116094 | | | | 116356 | 68819 | 37671 | 160000 |
| 500 | | 145331 | | | | 145445 | 12920 | 86489 | 250000 |
| | | | | | | | $\sum_i (y_i - \bar{y})^2$ | $\sum_i (x_i - x_{média})^2$ | $\sum_i (x_i)^2$ |
| | | | | | | | 25561607 | 277741 | 744125 |

Onde: y_i é a resposta do detector para um dado nível de concentração x_i ; n_i é o número de pontos utilizados na curva de calibração; \bar{y} -Valor correspondente estimado a partir da curva de calibração; a -ordenada na origem; e b -declive.

Tab. X-7: Cálculos dos valores médios necessários para a determinação de parâmetros de linearidade para o clorprofame.

| x_i | $x_{média}$ | y_i | n | a | b | \bar{y} | $\left(y_i - \bar{y}\right)^2$ | $(x_i - x_{média})$ | x_i^2 | | | | |
|-------|-------------|--------|----|--------|--------|-----------|--------------------------------|------------------------------|------------------|--|--|--|--|
| 10,0 | 205,91 | 1890 | 11 | 270,21 | 235,18 | 2622 | 536327 | 38380 | 100 | | | | |
| 30,0 | | 6760 | | | | 7055 | 87064 | 30944 | 900 | | | | |
| 50,0 | | 13012 | | | | 11759 | 1570844 | 24308 | 2500 | | | | |
| 75,0 | | 17001 | | | | 17639 | 406406 | 17137 | 5625 | | | | |
| 100 | | 25775 | | | | 23518 | 5094049 | 11217 | 10000 | | | | |
| 200 | | 48343 | | | | 47036 | 1707378 | 34,92 | 40000 | | | | |
| 250 | | 59432 | | | | 58795 | 405769 | 1944 | 62500 | | | | |
| 300 | | 68456 | | | | 70554 | 4403003 | 8853 | 90000 | | | | |
| 350 | | 81598 | | | | 82313 | 511225 | 20762 | 122500 | | | | |
| 400 | | 94266 | | | | 94072 | 37636 | 37671 | 160000 | | | | |
| 500 | | 119124 | | | | 117590 | 2354179 | 86489 | 250000 | | | | |
| | | | | | | | $\sum_i (y_i - \bar{y})^2$ | $\sum_i (x_i - x_{média})^2$ | $\sum_i (x_i)^2$ | | | | |
| | | | | | | | 17113880 | 277741 | 744125 | | | | |

Tab. X-8: Cálculos dos valores médios necessários para a determinação de parâmetros de linearidade para o EPTC.

| x_i | $x_{média}$ | y_i | n | a | b | \bar{y} | $\left(y_i - \bar{y}\right)^2$ | $(x_i - x_{média})$ | x_i^2 |
|-------|-------------|-------|----|---------|--------|-----------|--------------------------------|------------------------------|------------------|
| 10,0 | 205,91 | 1153 | 11 | -856,44 | 130,33 | 447 | 499105 | 38380 | 100 |
| 30,0 | | 3668 | | | | 3910 | 58516 | 30944 | 900 |
| 50,0 | | 6036 | | | | 6517 | 230560 | 24308 | 2500 |
| 75,0 | | 8408 | | | | 9775 | 1868917 | 17137 | 5625 |
| 100 | | 11609 | | | | 13033 | 2028725 | 11217 | 10000 |
| 200 | | 24481 | | | | 26066 | 2511168 | 34,92 | 40000 |
| 250 | | 31462 | | | | 32583 | 1256267 | 1944 | 62500 |
| 300 | | 37851 | | | | 39099 | 1557504 | 8853 | 90000 |
| 350 | | 44521 | | | | 45616 | 1197930 | 20762 | 122500 |
| 400 | | 51650 | | | | 52132 | 232003 | 37671 | 160000 |
| 500 | | 64932 | | | | 65165 | 54444 | 86489 | 250000 |
| | | | | | | | $\sum_i (y_i - \bar{y})^2$ | $\sum_i (x_i - x_{média})^2$ | $\sum_i (x_i)^2$ |
| | | | | | | | 11495140 | 277741 | 744125 |

Onde: y_i é a resposta do detector para um dado nível de concentração x_i ; n_i é o número de pontos utilizados na curva de calibração; \bar{y} -Valor correspondente estimado a partir da curva de calibração; a -ordenada na origem; e b -declive.

Tab. X-9: Cálculos dos valores médios necessários para a determinação de parâmetros de linearidade para o butilato.

| x_i | $x_{média}$ | y_i | n | a | b | \bar{y} | $\left(y_i - \bar{y}\right)^2$ | $(x_i - x_{média})$ | x_i^2 |
|-------|-------------|-------|-----------|----------|--------|-----------|--------------------------------|------------------------------|------------------|
| 30,0 | 225,50 | 914 | 10 | -1228,90 | 101,97 | 3059 | 4602884 | 38220 | 900 |
| 50,0 | | 1803 | | | | 5099 | 10860320 | 30800 | 2500 |
| 75,0 | | 7817 | | | | 7648 | 28646 | 22650 | 5625 |
| 100 | | 8399 | | | | 10197 | 3231605 | 15750 | 10000 |
| 200 | | 18803 | | | | 20394 | 2532342 | 650 | 40000 |
| 250 | | 25920 | | | | 25493 | 182471 | 600 | 62500 |
| 300 | | 29286 | | | | 30591 | 1702155 | 5550 | 90000 |
| 350 | | 33395 | | | | 35690 | 5263201 | 15500 | 122500 |
| 400 | | 38595 | | | | 40788 | 4807787 | 30450 | 160000 |
| 500 | | 50754 | | | | 50985 | 53207 | 75350 | 250000 |
| | | | | | | | $\sum_i (y_i - \bar{y})^2$ | $\sum_i (x_i - x_{média})^2$ | $\sum_i (x_i)^2$ |
| | | | | | | | 33264619 | 235523 | 744025 |

Onde: y_i é a resposta do detector para um dado nível de concentração x_i ; n_i é o número de pontos utilizados na curva de calibração; \bar{y} -Valor correspondente estimado a partir da curva de calibração; a -ordenada na origem; e b -declive.

Anexo XI - Resultados obtidos de percentagem de recuperação em cada ensaio na optimização das condições de extracção (solvente e temperatura de extracção) para os solos do tipo I e do tipo II.

Tab. XI-1: Percentagem de recuperação (% Rec) obtida para cada ensaio realizado, com o solvente de extracção acetonitrilo à temperatura de 60, 70 e 80 °C no solo do tipo I, para uma contaminação de 50,0 µg_{pesticida}/kg_{solo}.

| Composto | | Número de ensaios | | | | | | | | %Rec média | % CV | n |
|----------|--------------|-------------------|----------------|----------------|----------------|----------------|----------------|----------------|----------------|------------|------|---|
| | | n ₁ | n ₂ | n ₃ | n ₄ | n ₅ | n ₆ | n ₇ | n ₈ | | | |
| 60 °C | Carbofurão | 77,92 | 79,44 | 75,21 | 78,29 | 78,15 | 74,05 | | | 77,18 | 2,69 | 6 |
| | Carbaril | 101,4 | 99,6 | 100,9 | 104,0 | 102,3 | 102,1 | | | 101,7 | 1,45 | 6 |
| | Etiofencarbe | 151,9 | 136,7 | 135,7 | 125,4 | 154,8 | 142,1 | | | 141,1 | 7,76 | 6 |
| | Monolinurão | 113,8 | 114,0 | 112,4 | 114,8 | 111,3 | 110,6 | | | 112,8 | 1,47 | 6 |
| | Metobromurão | 121,6 | 125,2 | 119,4 | 125,1 | 122,9 | 123,0 | | | 122,9 | 1,78 | 6 |
| | Linurão | 103,0 | 103,9 | 101,5 | 103,2 | 105,9 | 103,3 | | | 103,5 | 1,40 | 6 |
| | Clorprofame | 109,4 | 107,6 | 104,5 | 105,2 | 107,3 | 109,0 | | | 107,2 | 1,82 | 6 |
| | EPTC | 287,6 | 294,1 | 282,4 | 284,2 | 303,8 | 307,8 | | | 293,3 | 3,59 | 6 |
| | Butilato | n.d. | n.d. | n.d. | n.d. | n.d. | n.d. | | | n.d. | | 6 |
| 70 °C | Carbofurão | 103,6 | 100,2 | 100,5 | 102,8 | | | | | 101,8 | 1,63 | 4 |
| | Carbaril | 102,7 | 98,61 | 99,61 | 99,32 | | | | | 100,1 | 1,81 | 4 |
| | Etiofencarbe | 104,2 | 107,3 | 105,9 | 103,8 | | | | | 105,3 | 1,55 | 4 |
| | Monolinurão | 108,2 | 106,0 | 103,7 | 108,2 | | | | | 106,5 | 2,02 | 4 |
| | Metobromurão | 102,7 | 98,4 | 97,2 | 100,2 | | | | | 99,63 | 2,39 | 4 |
| | Linurão | 100,1 | 99,5 | 100,5 | 100,7 | | | | | 100,2 | 0,49 | 4 |
| | Clorprofame | 119,1 | 118,6 | 118,2 | 125,5 | | | | | 120,3 | 2,85 | 4 |
| | EPTC | 7,36 | 6,84 | 11,00 | 7,69 | | | | | 8,22 | 22,9 | 4 |
| | Butilato | 20,18 | 23,22 | 22,95 | 27,29 | | | | | 23,41 | 12,5 | 4 |
| 80 °C | Carbofurão | 96,08 | 94,78 | 92,60 | 94,73 | | | | | 94,55 | 1,53 | 4 |
| | Carbaril | 104,9 | 103,4 | 106,0 | 104,7 | | | | | 104,7 | 1,02 | 4 |
| | Etiofencarbe | 100,3 | 102,0 | 98,66 | 98,67 | | | | | 99,91 | 1,60 | 4 |
| | Monolinurão | 110,2 | 108,0 | 107,1 | 105,9 | | | | | 107,8 | 1,69 | 4 |
| | Metobromurão | 101,3 | 98,48 | 102,7 | 105,2 | | | | | 101,9 | 2,76 | 4 |
| | Linurão | 91,98 | 94,51 | 91,69 | 92,47 | | | | | 92,66 | 1,37 | 4 |
| | Clorprofame | 113,7 | 107,0 | 110,8 | 104,0 | | | | | 108,9 | 3,88 | 4 |
| | EPTC | 19,70 | 27,98 | 25,68 | 20,85 | | | | | 23,55 | 16,7 | 4 |
| | Butilato | 42,43 | 51,13 | 46,53 | 47,45 | | | | | 46,89 | 7,63 | 4 |

n.d.-não detectado

Tab. XI-2: Percentagem de recuperação (% Rec) obtida para cada ensaio realizado, com o solvente de extracção hexano-acetona (1:1, v/v) à temperatura de 60, 70 e 80 °C no solo do tipo I, para uma contaminação de 50,0 µg_{pesticida}/kg_{solo}.

| Composto | | Número de ensaios | | | | | | | | %Rec média | % CV | n |
|----------|--------------|--------------------|----------------|----------------|----------------|----------------|----------------|----------------|----------------|---------------|---------|---|
| | | n ₁ | n ₂ | n ₃ | n ₄ | n ₅ | n ₆ | n ₇ | n ₈ | | | |
| 60 °C | Carbofurão | 38,36 ¹ | 75,93 | 76,69 | 75,86 | 73,04 | 72,05 | | | 74,71 | 2,73 | 5 |
| | Carbaril | 95,15 | 97,70 | 97,68 | 99,50 | 100,03 | 98,96 | | | 98,17 | 1,79 | 6 |
| | Etiofencarbe | n.d. | n.d. | n.d. | n.d. | n.d. | n.d. | | | n.d. | | 6 |
| | Monolinurão | 111,76 | 117,27 | 117,12 | 117,06 | 118,54 | 118,30 | | | 116,7 | 2,13 | 6 |
| | Metobromurão | 125,12 | 125,41 | 126,77 | 120,83 | 125,32 | 125,02 | | | 124,7 | 1,62 | 6 |
| | Linurão | 98,06 | 101,81 | 102,12 | 99,09 | 100,25 | 101,39 | | | 100,5 | 1,61 | 6 |
| | Clorprofame | 97,88 | 101,89 | 102,10 | 103,27 | 101,95 | 101,75 | | | 101,5 | 1,82 | 6 |
| | EPTC | n.d. | n.d. | n.d. | n.d. | n.d. | n.d. | | | n.d. | | 6 |
| | Butilato | n.d. | n.d. | n.d. | n.d. | n.d. | n.d. | | | 65,05 | 8,77 | 6 |
| 70 °C | Carbofurão | 91,31 | 89,98 | 95,21 | 93,71 | 91,31 | 89,98 | | | 92,55 | 2,54 | 4 |
| | Carbaril | 101,2 | 99,37 | 97,96 | 98,13 | 101,2 | 99,37 | | | 99,18 | 1,53 | 4 |
| | Etiofencarbe | n.d. | n.d. | n.d. | n.d. | n.d. | n.d. | | | n.d. | n.d. | 4 |
| | Monolinurão | 95,35 | 96,88 | 96,22 | 92,93 | 95,35 | 96,88 | | | 95,34 | 1,81 | 4 |
| | Metobromurão | 100,6 | 100,1 | 99,31 | 95,95 | 100,6 | 100,1 | | | 98,99 | 2,11 | 4 |
| | Linurão | 101,0 | 97,88 | 100,9 | 98,35 | 101,0 | 97,88 | | | 99,53 | 1,65 | 4 |
| | Clorprofame | 122,2 | 125,1 | 124,4 | 120,9 | 122,2 | 125,1 | | | 123,2 | 1,59 | 4 |
| | EPTC | 62,76 | 60,13 | 55,81 | 62,09 | 62,76 | 60,13 | | | 60,20 | 5,20 | 4 |
| | Butilato | 9,61 | 7,40 | 13,67 | 7,43 | 9,61 | 7,40 | | | 9,53 | 31,0 | 4 |
| 80 °C | Carbofurão | 82,70 | 85,67 | 83,88 | 84,33 | | | | | 84,15 | 1,46 | 4 |
| | Carbaril | 102,0 | 106,2 | 107,4 | 107,2 | | | | | 105,7 | 2,38 | 4 |
| | Etiofencarbe | n.d. | n.d. | n.d. | n.d. | | | | | n.d. | | 4 |
| | Monolinurão | 97,99 | 93,62 | 96,31 | 98,65 | | | | | 96,64 | 2,32 | 4 |
| | Metobromurão | 102,9 | 101,4 | 98,97 | 100,1 | | | | | 100,9 | 1,67 | 4 |
| | Linurão | 105,2 | 101,9 | 101,8 | 101,6 | | | | | 102,6 | 1,64 | 4 |
| | Clorprofame | 104,3 | 105,3 | 102,7 | 102,9 | | | | | 103,8 | 1,20 | 4 |
| | EPTC | 45,02 | 47,79 | 44,64 | 46,33 | | | | | 45,94 | 3,11 | 4 |
| | Butilato | 39,00 | 46,44 | 39,26 | 40,00 | | | | | 41,18 | 8,59 | 4 |

¹ -não se considerou este ensaio na média das recuperações

n.d.-não detectado

Tab. XI-3: Percentagem de recuperação (% Rec) obtida para cada ensaio realizado, com o solvente de extracção diclorometano-metanol (9:1, v/v) à temperatura de 60, 70 e 80 °C no solo do tipo I, para uma contaminação de 50,0 µg_{pesticida}/kg_{solo}.

| Composto | | Número de ensaios | | | | | | | | %Rec média | % CV | n |
|----------|--------------|-------------------|----------------|----------------|----------------|----------------|----------------|----------------|----------------|------------|------|---|
| | | n ₁ | n ₂ | n ₃ | n ₄ | n ₅ | n ₆ | n ₇ | n ₈ | | | |
| 60 °C | Carbofurão | 77,95 | 81,21 | 77,76 | 78,11 | 82,35 | 81,06 | | | 79,74 | 2,54 | 6 |
| | Carbaril | 94,94 | 94,95 | 94,17 | 95,63 | 91,80 | 92,13 | | | 93,94 | 1,70 | 6 |
| | Etiofencarbe | n.d. | n.d. | n.d. | n.d. | n.d. | n.d. | | | n.d. | | 6 |
| | Monolinurão | 121,1 | 125,7 | 123,3 | 117,6 | 116,7 | 123,9 | | | 121,4 | 2,97 | 6 |
| | Metobromurão | 116,3 | 113,1 | 119,1 | 120,5 | 122,9 | 118,3 | | | 118,4 | 2,87 | 6 |
| | Linurão | 102,0 | 100,0 | 105,0 | 107,0 | 102,1 | 103,5 | | | 103,3 | 2,42 | 6 |
| | Clorprofame | 95,10 | 92,88 | 96,67 | 91,45 | 95,07 | 92,19 | | | 93,89 | 2,15 | 6 |
| | EPTC | 35,18 | 35,76 | 31,10 | 33,59 | 33,68 | 29,31 | | | 33,10 | 7,44 | 6 |
| | Butilato | 101,8 | 101,8 | 102,4 | 106,5 | 103,3 | 103,1 | | | 103,2 | 1,69 | 6 |
| 70 °C | Carbofurão | 39,47 | 41,90 | 38,84 | 43,56 | 39,47 | 41,90 | | | 40,94 | 5,35 | 4 |
| | Carbaril | 76,61 | 73,72 | 77,78 | 72,75 | 76,61 | 73,72 | | | 75,22 | 2,19 | 4 |
| | Etiofencarbe | 37,72 | 38,33 | 43,01 | 46,05 | 37,72 | 38,33 | | | 41,28 | 3,23 | 4 |
| | Monolinurão | 74,84 | 80,47 | 79,75 | 72,66 | 74,84 | 80,47 | | | 76,93 | 4,93 | 4 |
| | Metobromurão | 78,64 | 83,30 | 79,92 | 77,25 | 78,64 | 83,30 | | | 79,78 | 3,25 | 4 |
| | Linurão | 79,60 | 79,79 | 82,25 | 74,59 | 79,60 | 79,79 | | | 79,06 | 4,07 | 4 |
| | Clorprofame | 84,43 | 86,85 | 82,26 | 85,75 | 84,43 | 86,85 | | | 84,82 | 2,33 | 4 |
| | EPTC | 3,00 | 1,30 | 1,53 | 6,00 | 3,00 | 1,30 | | | 2,96 | 73,2 | 4 |
| | Butilato | n.d. | n.d. | n.d. | n.d. | n.d. | n.d. | | | n.d. | n.d. | 4 |
| 80 °C | Carbofurão | 47,63 | 49,25 | 51,00 | 49,95 | 47,63 | 49,25 | | | 49,46 | 2,87 | 4 |
| | Carbaril | 96,54 | 98,60 | 96,80 | 93,23 | 96,54 | 98,60 | | | 96,29 | 2,23 | 4 |
| | Etiofencarbe | 95,94 | 98,11 | 99,58 | 97,55 | 95,94 | 98,11 | | | 97,79 | 0,91 | 4 |
| | Monolinurão | 105,7 | 108,4 | 107,6 | 103,3 | 105,7 | 108,4 | | | 106,2 | 2,11 | 4 |
| | Metobromurão | 105,9 | 103,7 | 109,5 | 104,9 | 105,9 | 103,7 | | | 106,0 | 2,36 | 4 |
| | Linurão | 69,07 | 76,21 | 79,51 | 76,22 | 69,07 | 76,21 | | | 75,25 | 5,85 | 4 |
| | Clorprofame | 80,98 | 76,83 | 79,19 | 78,86 | 80,98 | 76,83 | | | 78,97 | 2,16 | 4 |
| | EPTC | 15,00 | 17,52 | 13,78 | 14,22 | 15,00 | 17,52 | | | 15,13 | 11,1 | 4 |
| | Butilato | n.d. | n.d. | n.d. | n.d. | n.d. | n.d. | | | n.d. | | 4 |

n.d.-não detectado

Tab. XI-4: Percentagem de recuperação (% Rec) obtida para cada ensaio realizado, com o solvente de extracção acetonitrilo à temperatura de 60, 70 e 80 °C no solo do tipo II, para uma contaminação de 50,0 µg_{pesticida}/kg_{solo}.

| Composto | | Número de ensaios | | | | | | | | %Rec média | % CV | n |
|----------|--------------|-------------------|----------------|----------------|----------------|----------------|----------------|----------------|----------------|------------|------|---|
| | | n ₁ | n ₂ | n ₃ | n ₄ | n ₅ | n ₆ | n ₇ | n ₈ | | | |
| 60 °C | Carbofurão | 84,86 | 88,59 | 87,02 | 89,21 | 86,29 | 89,87 | | | 87,64 | 2,18 | 6 |
| | Carbaril | 98,90 | 98,62 | 100,4 | 101,2 | 101,6 | 102,2 | | | 100,5 | 1,45 | 6 |
| | Etiofencarbe | 29,01 | 31,58 | 30,32 | 27,37 | 29,93 | 35,09 | | | 30,55 | 8,61 | 6 |
| | Monolinurão | 113,9 | 115,9 | 119,2 | 120,0 | 117,5 | 119,6 | | | 117,7 | 2,05 | 6 |
| | Metobromurão | 89,36 | 89,79 | 94,70 | 93,14 | 87,96 | 91,01 | | | 90,99 | 2,77 | 6 |
| | Linurão | 93,48 | 95,88 | 95,84 | 98,18 | 95,35 | 93,40 | | | 95,36 | 1,87 | 6 |
| | Clorprofame | 61,23 | 58,50 | 56,23 | 57,16 | 60,09 | 58,26 | | | 58,58 | 3,14 | 6 |
| | EPTC | 20,65 | 20,97 | 32,12 | 34,64 | 21,65 | 36,37 | | | 27,74 | 26,7 | 6 |
| | Butilato | n.d. | n.d. | n.d. | n.d. | n.d. | n.d. | | | n.d. | n.d. | 6 |
| 70 °C | Carbofurão | 81,01 | 82,22 | 81,35 | 82,76 | 79,77 | 83,67 | 85,42 | 80,02 | 82,03 | 2,32 | 8 |
| | Carbaril | 100,7 | 102,5 | 99,85 | 97,64 | 98,23 | 99,39 | 96,75 | 96,27 | 98,92 | 2,14 | 8 |
| | Etiofencarbe | 8,12 | 6,14 | 4,82 | 3,84 | 42,08 | 47,38 | 47,69 | 44,05 | 45,30 | 5,97 | 4 |
| | Monolinurão | 87,83 | 86,37 | 83,68 | 85,53 | 89,72 | 92,22 | 87,25 | 84,83 | 87,18 | 3,17 | 8 |
| | Metobromurão | 80,77 | 80,06 | 78,36 | 82,66 | 79,84 | 83,44 | 82,58 | 83,91 | 81,45 | 2,42 | 8 |
| | Linurão | 75,16 | 77,40 | 76,95 | 77,23 | 76,58 | 73,26 | 77,24 | 80,23 | 76,76 | 2,60 | 8 |
| | Clorprofame | 97,65 | 97,32 | 98,67 | 93,91 | 93,27 | 89,46 | 92,86 | 92,10 | 94,40 | 3,37 | 8 |
| | EPTC | 21,38 | 25,83 | 20,68 | 23,02 | 35,82 | 36,22 | 42,14 | 38,01 | 38,05 | 7,60 | 4 |
| | Butilato | 28,44 | 37,76 | 24,81 | 22,58 | 55,15 | 43,14 | 51,69 | 46,67 | 49,16 | 10,8 | 4 |
| 80 °C | Carbofurão | 57,21 | 61,32 | 61,56 | 62,22 | | | | | 60,58 | 3,76 | 4 |
| | Carbaril | 95,81 | 96,27 | 98,59 | 98,40 | | | | | 97,27 | 1,47 | 4 |
| | Etiofencarbe | n.d. | n.d. | n.d. | n.d. | | | | | n.d. | | 4 |
| | Monolinurão | 86,86 | 84,94 | 84,71 | 86,60 | | | | | 85,78 | 1,29 | 4 |
| | Metobromurão | 76,53 | 75,74 | 77,89 | 76,98 | | | | | 76,78 | 1,17 | 4 |
| | Linurão | 76,88 | 75,01 | 79,27 | 78,45 | | | | | 77,40 | 2,43 | 4 |
| | Clorprofame | 88,66 | 85,04 | 90,43 | 88,83 | | | | | 88,24 | 2,58 | 4 |
| | EPTC | 19,71 | 33,70 | 28,32 | 26,00 | | | | | 26,93 | 21,5 | 4 |
| | Butilato | 38,15 | 52,72 | 43,34 | 43,39 | | | | | 44,40 | 13,7 | 4 |

n.d.-não detectado

Tab XI-5: Percentagem de recuperação (% Rec) obtida para cada ensaio realizado, com o solvente de extracção hexano-acetona (1:1, v/v) à temperatura de 60, 70 e 80 °C no solo do tipo II, para uma contaminação de 50,0 µg_{pesticida}/kg_{solo}.

| Composto | | Número de ensaios | | | | | | | | %Rec média | % CV | n |
|----------|--------------|-------------------|----------------|----------------|----------------|----------------|----------------|----------------|----------------|---------------|---------|---|
| | | n ₁ | n ₂ | n ₃ | n ₄ | n ₅ | n ₆ | n ₇ | n ₈ | | | |
| 60 °C | Carbofurão | 79,03 | 81,85 | 81,63 | 82,70 | 81,38 | 85,17 | | | 81,96 | 2,44 | 6 |
| | Carbaril | 105,1 | 98,69 | 102,4 | 103,9 | 106,4 | 100,9 | | | 102,9 | 2,76 | 6 |
| | Etiofencarbe | 16,04 | 18,86 | 16,24 | 18,75 | 17,48 | 19,90 | | | 17,88 | 8,68 | 6 |
| | Monolinurão | 104,5 | 100,8 | 106,2 | 108,8 | 106,0 | 103,5 | | | 105,0 | 2,60 | 6 |
| | Metobromurão | 105,7 | 107,7 | 109,6 | 107,3 | 109,8 | 111,0 | | | 108,5 | 1,80 | 6 |
| | Linurão | 82,67 | 82,87 | 83,22 | 80,09 | 81,09 | 82,19 | | | 82,02 | 1,46 | 6 |
| | Clorprofame | 45,55 | 52,95 | 45,69 | 50,64 | 50,58 | 53,57 | | | 49,83 | 6,98 | 6 |
| | EPTC | n.d. | n.d. | n.d. | n.d. | n.d. | n.d. | | | n.d. | | 6 |
| | Butilato | n.d. | n.d. | n.d. | n.d. | n.d. | n.d. | | | n.d. | | 6 |
| 70 °C | Carbofurão | 83,46 | 84,99 | 81,19 | 82,14 | 83,46 | 84,99 | | | 82,95 | 1,99 | 4 |
| | Carbaril | 90,20 | 89,70 | 93,09 | 90,92 | 90,20 | 89,70 | | | 90,98 | 1,64 | 4 |
| | Etiofencarbe | 4,21 | 2,71 | 2,68 | 3,18 | 4,21 | 2,71 | | | 3,20 | 22,3 | 4 |
| | Monolinurão | 93,06 | 88,97 | 93,13 | 89,33 | 93,06 | 88,97 | | | 91,12 | 2,50 | 4 |
| | Metobromurão | 91,87 | 95,65 | 92,51 | 95,68 | 91,87 | 95,65 | | | 93,93 | 2,15 | 4 |
| | Linurão | 86,28 | 83,98 | 81,53 | 82,36 | 86,28 | 83,98 | | | 83,54 | 2,51 | 4 |
| | Clorprofame | 92,77 | 90,39 | 94,20 | 89,50 | 92,77 | 90,39 | | | 91,72 | 2,35 | 4 |
| | EPTC | 7,87 | 2,83 | 3,99 | 7,79 | 7,87 | 2,83 | | | 5,62 | 46,2 | 4 |
| | Butilato | 10,68 | 10,36 | 18,61 | 19,23 | 10,68 | 10,36 | | | 14,72 | 33,0 | 4 |
| 80 °C | Carbofurão | 55,62 | 51,12 | 51,43 | 53,43 | | | | | 52,90 | 3,93 | 4 |
| | Carbaril | 98,06 | 98,60 | 95,46 | 99,28 | | | | | 97,85 | 1,71 | 4 |
| | Etiofencarbe | n.d. | n.d. | n.d. | n.d. | | | | | n.d. | | 4 |
| | Monolinurão | 82,62 | 85,26 | 82,99 | 82,76 | | | | | 83,41 | 1,49 | 4 |
| | Metobromurão | 80,59 | 78,00 | 76,55 | 81,19 | | | | | 79,08 | 2,76 | 4 |
| | Linurão | 79,20 | 80,62 | 79,76 | 78,61 | | | | | 79,55 | 1,08 | 4 |
| | Clorprofame | 97,29 | 93,76 | 97,32 | 97,63 | | | | | 96,50 | 1,90 | 4 |
| | EPTC | n.d. | n.d. | n.d. | n.d. | | | | | n.d. | | 4 |
| | Butilato | n.d. | n.d. | n.d. | n.d. | | | | | n.d. | | 4 |

n.d.-não detectado

Tab. XI-6: Percentagem de recuperação (% Rec) obtida para cada ensaio realizado, com o solvente de extracção diclorometano-metanol (9:1, v/v) à temperatura de 60, 70 e 80 °C no solo do tipo II, para uma contaminação de 50,0 µg_{pesticida}/kg_{solo}.

| Composto | | Número de ensaios | | | | | | | | %Rec média | % CV | n |
|----------|--------------|-------------------|----------------|----------------|----------------|----------------|----------------|----------------|----------------|------------|------|---|
| | | n ₁ | n ₂ | n ₃ | n ₄ | n ₅ | n ₆ | n ₇ | n ₈ | | | |
| 60 °C | Carbofurão | 36,83 | 37,16 | 37,39 | 35,34 | 38,83 | 39,98 | | | 37,59 | 4,30 | 6 |
| | Carbaril | 87,01 | 85,79 | 84,46 | 83,61 | 84,63 | 83,04 | | | 84,76 | 1,71 | 6 |
| | Etiofencarbe | 12,46 | 11,76 | 11,43 | 10,64 | 13,20 | 12,42 | | | 11,99 | 7,52 | 6 |
| | Monolinurão | 103,8 | 105,9 | 108,5 | 106,9 | 103,3 | 108,8 | | | 106,2 | 2,18 | 6 |
| | Metobromurão | 90,05 | 91,84 | 92,45 | 92,54 | 86,45 | 88,83 | | | 90,36 | 2,67 | 6 |
| | Linurão | 90,45 | 93,74 | 94,03 | 89,26 | 93,54 | 95,85 | | | 92,81 | 2,65 | 6 |
| | Clorprofame | 51,46 | 48,52 | 55,33 | 56,30 | 49,14 | 56,93 | | | 52,95 | 7,02 | 6 |
| | EPTC | n.d. | n.d. | n.d. | n.d. | n.d. | n.d. | | | n.d. | | 6 |
| | Butilato | n.d. | n.d. | n.d. | n.d. | n.d. | n.d. | | | n.d. | | 6 |
| 70 °C | Carbofurão | 100,6 | 97,67 | 99,29 | 94,76 | | | | | 98,07 | 2,55 | 4 |
| | Carbaril | 113,5 | 105,4 | 105,2 | 107,1 | | | | | 107,8 | 1,27 | 4 |
| | Etiofencarbe | 72,20 | 76,75 | 75,80 | 71,18 | | | | | 73,98 | 2,45 | 4 |
| | Monolinurão | 96,45 | 96,21 | 98,96 | 98,29 | | | | | 97,48 | 1,39 | 4 |
| | Metobromurão | 91,97 | 88,33 | 90,29 | 87,14 | | | | | 89,43 | 2,38 | 4 |
| | Linurão | 70,82 | 70,59 | 71,59 | 69,10 | | | | | 70,53 | 1,48 | 4 |
| | Clorprofame | 67,71 | 68,32 | 70,89 | 68,81 | | | | | 68,93 | 2,00 | 4 |
| | EPTC | 18,97 | 17,87 | 18,99 | 19,77 | | | | | 18,90 | 4,15 | 4 |
| | Butilato | n.d. | 32,29 | 28,82 | 28,70 | | | | | 29,94 | 6,81 | 3 |
| 80 °C | Carbofurão | 49,16 | 50,16 | 52,29 | 52,11 | | | | | 50,93 | 2,99 | 4 |
| | Carbaril | 102,4 | 102,5 | 99,33 | 99,07 | | | | | 100,8 | 1,56 | 4 |
| | Etiofencarbe | n.d. | n.d. | n.d. | n.d. | | | | | n.d. | | 4 |
| | Monolinurão | 85,37 | 88,63 | 84,37 | 85,39 | | | | | 85,94 | 2,16 | 4 |
| | Metobromurão | 82,03 | 79,29 | 77,95 | 77,78 | | | | | 79,26 | 2,48 | 4 |
| | Linurão | 82,90 | 80,82 | 83,98 | 79,76 | | | | | 81,87 | 2,35 | 4 |
| | Clorprofame | 84,15 | 84,15 | 81,54 | 84,98 | | | | | 83,70 | 1,79 | 4 |
| | EPTC | 31,26 | 24,32 | 22,20 | 27,54 | | | | | 26,33 | 15,0 | 4 |
| | Butilato | 35,29 | 38,54 | 38,26 | 36,05 | | | | | 37,04 | 4,35 | 4 |

n.d.-não detectado

Tab. XI-7: Percentagem de recuperação (% Rec) obtida para cada ensaio realizado, com o solvente de extracção acetonitrilo à temperatura de 70 °C no solo do tipo I, para a extracção após 24 horas da contaminação de 30,0, 50,0 e 70,0 $\mu\text{g}_{\text{pesticida}}/\text{kg}_{\text{solo}}$.

| Composto | | Número de ensaios | | | | | | | | %Rec média | % CV | n |
|------------------------------|--------------|-------------------|----------------|----------------|----------------|----------------|----------------|----------------|----------------|------------|------|---|
| | | n ₁ | n ₂ | n ₃ | n ₄ | n ₅ | n ₆ | n ₇ | n ₈ | | | |
| 30,0 $\mu\text{g}/\text{kg}$ | Carbofurão | 93,37 | 93,16 | 91,87 | 88,52 | | | | | 91,73 | 2,45 | 4 |
| | Carbaril | 87,85 | 88,20 | 83,67 | 88,31 | | | | | 87,01 | 2,57 | 4 |
| | Etiofencarbe | 77,61 | 84,18 | 83,65 | 83,73 | | | | | 82,29 | 3,80 | 4 |
| | Monolinurão | 117,4 | 111,6 | 107,0 | 113,8 | | | | | 112,5 | 3,87 | 4 |
| | Metobromurão | 84,82 | 93,80 | 91,93 | 88,11 | | | | | 89,67 | 4,47 | 4 |
| | Linurão | 82,61 | 74,91 | 75,18 | 80,44 | | | | | 78,29 | 4,92 | 4 |
| | Clorprofame | 72,01 | 71,85 | 69,92 | 76,64 | | | | | 72,61 | 3,93 | 4 |
| | EPTC | 9,96 | 8,71 | 8,29 | 12,30 | | | | | 9,82 | 18,4 | 4 |
| | Butilato | 38,77 | 31,33 | 37,00 | 21,99 | | | | | 32,27 | 23,4 | 4 |
| 50,0 $\mu\text{g}/\text{kg}$ | Carbofurão | 103,6 | 100,2 | 100,5 | 102,8 | | | | | 101,8 | 1,63 | 4 |
| | Carbaril | 102,7 | 98,61 | 99,61 | 99,32 | | | | | 100,1 | 1,81 | 4 |
| | Etiofencarbe | 104,2 | 107,3 | 105,9 | 103,8 | | | | | 105,3 | 1,55 | 4 |
| | Monolinurão | 108,2 | 106,0 | 103,7 | 108,2 | | | | | 106,5 | 2,02 | 4 |
| | Metobromurão | 102,7 | 98,4 | 97,2 | 100,2 | | | | | 99,63 | 2,39 | 4 |
| | Linurão | 100,1 | 99,5 | 100,5 | 100,7 | | | | | 100,2 | 0,49 | 4 |
| | Clorprofame | 119,1 | 118,6 | 118,2 | 125,5 | | | | | 120,3 | 2,85 | 4 |
| | EPTC | 7,36 | 6,84 | 11,00 | 7,69 | | | | | 8,22 | 22,9 | 4 |
| | Butilato | 20,18 | 23,22 | 22,95 | 27,29 | | | | | 23,41 | 12,5 | 4 |
| 70,0 $\mu\text{g}/\text{kg}$ | Carbofurão | 80,98 | 82,34 | 83,24 | 83,28 | | | | | 82,46 | 1,30 | 4 |
| | Carbaril | 101,3 | 99,24 | 99,19 | 101,7 | | | | | 100,4 | 1,35 | 4 |
| | Etiofencarbe | 93,32 | 97,33 | 92,41 | 92,87 | | | | | 93,98 | 2,41 | 4 |
| | Monolinurão | 106,3 | 102,7 | 99,36 | 100,6 | | | | | 102,2 | 2,97 | 4 |
| | Metobromurão | 98,02 | 101,25 | 99,17 | 99,60 | | | | | 99,51 | 1,35 | 4 |
| | Linurão | 95,03 | 97,09 | 96,48 | 95,00 | | | | | 95,90 | 1,10 | 4 |
| | Clorprofame | 109,4 | 104,6 | 105,1 | 108,5 | | | | | 106,9 | 2,26 | 4 |
| | EPTC | 12,58 | 7,27 | 9,57 | 10,46 | | | | | 9,97 | 22,0 | 4 |
| | Butilato | 33,76 | 30,03 | 24,08 | 38,43 | | | | | 31,57 | 19,2 | 4 |

n.d.-não detectado

Tab XI-8: Percentagem de recuperação (% Rec) obtida para cada ensaio realizado, com o solvente de extracção acetonitrilo à temperatura de 70 °C no solo do tipo I, para a extracção após 1 mês da contaminação 50,0 µg_{pesticida}/kg_{solo}.

| Composto | | Número de ensaios | | | | | | | | %Rec média | % CV | n |
|---------------|--------------|-------------------|----------------|----------------|----------------|----------------|----------------|----------------|----------------|---------------|------|---|
| | | n ₁ | n ₂ | n ₃ | n ₄ | n ₅ | n ₆ | n ₇ | n ₈ | | | |
| 50,0 µg/kg | Carbofurão | 75,44 | 69,66 | 80,43 | 74,41 | | | | | 74,99 | 5,89 | 4 |
| | Carbaril | 93,92 | 89,83 | 98,62 | 90,23 | | | | | 93,15 | 4,39 | 4 |
| | Etiofencarbe | 63,13 | 58,24 | 63,28 | 57,09 | | | | | 60,44 | 5,35 | 4 |
| | Monolinurão | 61,37 | 59,31 | 66,09 | 66,17 | | | | | 63,23 | 5,45 | 4 |
| | Metobromurão | 72,37 | 65,97 | 73,10 | 73,29 | | | | | 71,19 | 4,91 | 4 |
| | Linurão | 69,30 | 58,79 | 71,26 | 68,05 | | | | | 66,85 | 8,28 | 4 |
| | Clorprofame | 54,60 | 47,64 | 48,54 | 49,80 | | | | | 50,15 | 6,17 | 4 |
| | EPTC | 34,16 | 28,02 | 30,93 | 19,31 | | | | | 28,11 | 22,7 | 4 |
| | Butilato | 63,48 | 39,65 | 20,46 | 32,80 | | | | | 39,10 | 46,3 | 4 |

Tab. XI-9: Percentagem de recuperação (% Rec) obtida para cada ensaio realizado, com o solvente de extracção acetonitrilo à temperatura de 70 °C no solo do tipo II para a extracção após 24 horas da contaminação de 30,0, 50,0 e 70,0 µg_{pesticida}/kg_{solo}.

| Composto | | Número de ensaios | | | | | | | | %Rec média | % CV | n |
|------------|--------------|-------------------|----------------|----------------|----------------|----------------|----------------|----------------|----------------|------------|------|---|
| | | n ₁ | n ₂ | n ₃ | n ₄ | n ₅ | n ₆ | n ₇ | n ₈ | | | |
| 30,0 µg/kg | Carbofurão | 73,30 | 67,89 | 71,09 | 69,89 | | | | | 70,54 | 3,21 | 4 |
| | Carbaril | 86,28 | 90,54 | 84,07 | 91,77 | | | | | 88,17 | 4,09 | 4 |
| | Etiofencarbe | 72,44 | 71,28 | 67,52 | 67,07 | | | | | 69,58 | 3,86 | 4 |
| | Monolinurão | 94,94 | 88,62 | 91,17 | 86,57 | | | | | 90,33 | 3,99 | 4 |
| | Metobromurão | 82,55 | 79,25 | 80,41 | 84,36 | | | | | 81,64 | 2,78 | 4 |
| | Linurão | 80,26 | 76,64 | 79,14 | 73,73 | | | | | 77,44 | 3,75 | 4 |
| | Clorprofame | 81,14 | 78,88 | 81,04 | 80,02 | | | | | 80,27 | 1,32 | 4 |
| | EPTC | 19,24 | 12,34 | 22,19 | 19,38 | | | | | 18,29 | 22,9 | 4 |
| | Butilato | 42,85 | 35,94 | 39,33 | 33,83 | | | | | 37,99 | 10,4 | 4 |
| 50,0 µg/kg | Carbofurão | 81,01 | 82,22 | 81,35 | 82,76 | 79,77 | 83,67 | 85,42 | 80,02 | 82,03 | 2,32 | 8 |
| | Carbaril | 100,7 | 102,5 | 99,85 | 97,64 | 98,23 | 99,39 | 96,75 | 96,27 | 98,92 | 2,14 | 8 |
| | Etiofencarbe | 8,12 | 6,14 | 4,82 | 3,84 | 42,08 | 47,38 | 47,69 | 44,05 | 45,30 | 5,97 | 4 |
| | Monolinurão | 87,83 | 86,37 | 83,68 | 85,53 | 89,72 | 92,22 | 87,25 | 84,83 | 87,18 | 3,17 | 8 |
| | Metobromurão | 80,77 | 80,06 | 78,36 | 82,66 | 79,84 | 83,44 | 82,58 | 83,91 | 81,45 | 2,42 | 8 |
| | Linurão | 75,16 | 77,40 | 76,95 | 77,23 | 76,58 | 73,26 | 77,24 | 80,23 | 76,76 | 2,60 | 8 |
| | Clorprofame | 97,65 | 97,32 | 98,67 | 93,91 | 93,27 | 89,46 | 92,86 | 92,10 | 94,40 | 3,37 | 8 |
| | EPTC | 21,38 | 25,83 | 20,68 | 23,02 | 35,82 | 36,22 | 42,14 | 38,01 | 38,05 | 7,60 | 4 |
| | Butilato | 28,44 | 37,76 | 24,81 | 22,58 | 55,15 | 43,14 | 51,69 | 46,67 | 49,16 | 10,8 | 4 |
| 70,0 µg/kg | Carbofurão | 75,46 | 73,90 | 77,24 | 76,64 | | | | | 75,81 | 1,94 | 4 |
| | Carbaril | 99,08 | 96,19 | 97,24 | 97,56 | | | | | 97,52 | 1,23 | 4 |
| | Etiofencarbe | 15,01 | 16,31 | 13,65 | 15,85 | | | | | 15,21 | 7,67 | 4 |
| | Monolinurão | 88,82 | 91,04 | 87,66 | 93,14 | | | | | 90,16 | 2,70 | 4 |
| | Metobromurão | 89,06 | 94,68 | 91,87 | 92,55 | | | | | 92,04 | 2,52 | 4 |
| | Linurão | 88,07 | 85,18 | 86,09 | 87,79 | | | | | 86,78 | 1,59 | 4 |
| | Clorprofame | 74,17 | 75,47 | 77,86 | 75,70 | | | | | 75,80 | 2,01 | 4 |
| | EPTC | 12,25 | 14,00 | 14,04 | 10,19 | | | | | 12,62 | 14,5 | 4 |
| | Butilato | 34,35 | 38,13 | 38,97 | 37,00 | | | | | 37,11 | 5,41 | 4 |

n.d.-não detectado

Tab. XI-10: Percentagem de recuperação (% Rec) obtida para cada ensaio realizado, com o solvente de extracção acetoneitrilo à temperatura de 70 °C no solo do tipo II para a extracção após 1 mês da contaminação 50,0 µg_{pesticida}/kg_{solo}.

| Composto | | Número de ensaios | | | | | | | | %Rec média | % CV | n |
|---------------|--------------|-------------------|----------------|----------------|----------------|----------------|----------------|----------------|----------------|---------------|---------|---|
| | | n ₁ | n ₂ | n ₃ | n ₄ | n ₅ | n ₆ | n ₇ | n ₈ | | | |
| 50,0 µg/kg | Carbofurão | 69,87 | 80,55 | 72,76 | 80,50 | | | | | 75,92 | 7,17 | 4 |
| | Carbaril | 97,11 | 94,63 | 110,8 | 108,5 | | | | | 102,8 | 7,84 | 4 |
| | Etiofencarbe | 16,01 | 15,58 | 12,25 | 19,11 | | | | | 15,74 | 17,8 | 4 |
| | Monolinurão | 70,43 | 73,63 | 85,20 | 71,17 | | | | | 75,11 | 9,14 | 4 |
| | Metobromurão | 75,88 | 71,38 | 85,81 | 84,48 | | | | | 79,39 | 8,72 | 4 |
| | Linurão | 65,42 | 69,12 | 60,91 | 70,80 | | | | | 66,56 | 6,59 | 4 |
| | Clorprofame | 80,88 | 84,55 | 77,19 | 86,25 | | | | | 82,22 | 4,90 | 4 |
| | EPTC | 43,62 | 35,97 | 32,82 | 34,26 | | | | | 36,67 | 13,1 | 4 |
| | Butilato | 46,40 | 37,82 | 30,40 | 33,57 | | | | | 37,05 | 18,7 | 4 |

Anexo XII - Degradação e estabilidade dos pesticidas em estudo

Tab. XII-1: Degradação e estabilidade dos pesticidas: butilato, carbofurão, carbaril, clorprofame, EPTC, etiofencarbe, linurão, metobromurão e monolinurão^[98].

| Compostos | Estabilidade | Degradação | Produtos de degradação | DT ₅₀ (em solução) | DT ₅₀ (em solos) |
|---------------------|--|--|---|---|--|
| Butilato | -Estável a temperaturas superior a 200 °C. | -Hidrolisado em soluções ácidas e bases fortes em solução aquosa e à luz. | -Etilmercaptano -Diisobutilamina | | 1,5 a 10 semanas |
| Carbaril | -Estável ao calor e à luz. -Estável em condições neutras e soluções de ácidos fracos. | | -4-hidroxicarbaril -5-hidroxicarbaril -7-hidroxicarbaril -5-6-dihidrodial carbaril -Metilol-carbaril -1-naftol | pH=7 → 12 dias pH=9 → 3,2 hr | Concentração=1mg/L Areia=7 a 14 dias Solo=14 a 28 dias |
| Carbofurão | -Estável ao calor e à luz. -Estável em condições neutras e soluções de ácidos fracos. | -Decompõe-se a temperaturas superior a 150 °C. -Instável em soluções alcalinas. | -3-hidroxicarbofurão -3-cetocarbofurão -3-hidroxiometilcarbofurão | 22°C: pH=4 → 1 ano pH=7 → 121 dias pH=9 → 31 hr | 30 a 60 dias |
| Clorprofame | -Estável à luz | -Decompõe-se a temperaturas superior a 150 °C. -Hidrolisado lentamente em soluções ácidas e alcalinas. | -Isopropil-N-4-hidroxi-3-clorofenilcarbamato -Isopropil-N-S-cloro-2-hidroxifenilcarbamato | | 15 °C → 65 dias 29 °C → 30 dias |
| EPTC | -Estável a temperaturas superior a 200°C. | -Hidrolisado por ácidos fortes (com aquecimento). | -Resíduo de mercaptano -Resíduos de amino | | 4 a 6 semanas em solos aquecidos. |
| Etiofencarbe | -Estável em soluções neutras e ácidos fracos. | -Hidrolisado em solução alcalina e em solução aquosa. - Rápida fotodegradação à luz. | -Etiofencarbe sulfóxido -Etiofencarbe sulfona | | Rapidamente degradado |
| Linurão | -Estável em soluções aquosas. | | | | 38 a 67 dias |
| Metobromurão | -Estável em soluções neutras, ácidos e bases diluídas. | -Hidrolisado em ácidos e bases fortes. | -Etilmercaptano -Diisobutilamina | | 30 dias |
| Monolinurão | -Estável em soluções neutras. | -Decompõe-se lentamente em soluções ácidas e alcalinas. -Degradação acelerada por UV. -Decompõe-se a temperaturas superior 200 °C. | 3-(2-hidroxi-4-clorofenil)ureia 3-hidroxiomonolinurão | | 45 a 60 dias |

Anexo XIII - Resultados obtidos da percentagem de recuperação para cada solvente de extracção na gama de temperaturas estudada na matriz do tomate.

Tab. XIII-1: Percentagem de recuperação (% Rec) obtida para cada ensaio realizado, com o solvente de extracção acetoneitrilo à temperatura de 60, 70 e 80 °C no tomate, para o nível de contaminação I.

| Composto | | Número de ensaios | | | | | | %Rec média | % CV | n |
|----------|--------------|--------------------------|--------------------------|--------------------------|--------------------------|----------------|----------------|------------|------|---|
| | | n ₁ | n ₂ | n ₃ | n ₄ | n ₅ | n ₆ | | | |
| 60 °C | Carbofurão | 67,21 | 65,25 | 68,56 | 62,19 | | | 65,80 | 4,20 | 4 |
| | Carbaril | 106,8 | 104,6 | 95,93 | 91,01¹ | | | 102,4 | 5,59 | 3 |
| | Etiofencarbe | 96,48 | 93,31 | 95,96 | 97,25 | | | 95,75 | 1,78 | 4 |
| | Monolinurão | 90,32¹ | 79,26 | 77,93 | 75,06 | | | 77,42 | 2,78 | 3 |
| | Metobromurão | 81,17¹ | 74,36 | 72,16 | 68,07 | | | 71,53 | 4,46 | 3 |
| | Linurão | 80,52¹ | 73,36 | 76,53 | 73,30 | | | 74,40 | 2,48 | 3 |
| | Clorprofame | 86,73 | 78,58 | 60,66¹ | 81,94 | | | 82,42 | 4,97 | 3 |
| | EPTC | 61,70 | 67,11¹ | 57,58 | 53,64 | | | 57,64 | 7,00 | 3 |
| | Butilato | 85,43¹ | 77,03 | 73,17 | 78,72 | | | 76,31 | 3,72 | 3 |
| 70 °C | Carbofurão | 68,65 | 72,78 | 69,61 | 64,29 | | | 68,84 | 5,09 | 4 |
| | Carbaril | 101,6 | 98,70 | 94,39 | 57,05¹ | | | 98,22 | 3,67 | 3 |
| | Etiofencarbe | 75,77 | 70,64 | 76,34 | 68,37 | | | 72,78 | 5,36 | 4 |
| | Monolinurão | 82,85 | 85,99 | 80,40 | 100,9¹ | | | 83,08 | 3,37 | 3 |
| | Metobromurão | 54,96 | 59,92 | 52,51 | 59,13 | | | 56,63 | 6,18 | 4 |
| | Linurão | 81,82 | 85,72 | 80,07 | 88,66 | | | 84,07 | 4,60 | 4 |
| | Clorprofame | 26,48 | 120,5 | 32,79 | 113,9 | | | 73,41 | 69,0 | 4 |
| | EPTC | 53,74 | 85,15 | 57,50 | 96,64 | | | 73,25 | 28,6 | 4 |
| | Butilato | 45,59 | 92,79 | 42,81 | 34,04 | | | 40,81 | 14,8 | 4 |
| 80 °C | Carbofurão | 39,82 | 35,53 | 35,10 | 35,49 | | | 36,48 | 6,12 | 4 |
| | Carbaril | 75,28¹ | 101,12 | 109,06 | 100,2 | | | 103,45 | 4,72 | 3 |
| | Etiofencarbe | 67,50 | 48,28¹ | 70,96 | 65,32 | | | 67,92 | 4,19 | 3 |
| | Monolinurão | 69,23 | 71,50 | 75,41 | 69,84 | | | 71,50 | 3,88 | 4 |
| | Metobromurão | 49,34 | 48,43 | 47,02 | 46,64 | | | 47,86 | 2,62 | 4 |
| | Linurão | 76,19 | 78,02 | 76,53 | 72,00 | | | 75,69 | 3,41 | 4 |
| | Clorprofame | 84,20 | 94,40 | 84,35 | 91,57 | | | 88,63 | 5,82 | 4 |
| | EPTC | 55,90 | 58,38 | 59,84 | 59,51 | | | 58,41 | 3,05 | 4 |
| | Butilato | 10,49 | 6,62 | 9,80 | 11,47 | | | 9,59 | 21,9 | 4 |

n.d.-não detectado; ¹Ensaio desprezado no cálculo da média

Tab XIII-2: Percentagem de recuperação (% Rec) obtida para cada ensaio realizado, com o solvente de extracção hexano-acetona (1:1, v/v) à temperatura de 60, 70 e 80 °C no tomate, para o nível de contaminação I.

| Composto | | Número de ensaios | | | | | | %Rec média | % CV | n |
|----------|--------------|--------------------|--------------------|--------------------|--------------------|----------------|----------------|---------------|---------|---|
| | | n ₁ | n ₂ | n ₃ | n ₄ | n ₅ | n ₆ | | | |
| 60 °C | Carbofurão | 65,18 | 70,59 | 39,12 ¹ | 62,26 | | | 66,01 | 6,40 | 3 |
| | Carbaril | 60,58 ¹ | 73,11 | 85,05 | 82,84 | | | 80,33 | 7,91 | 3 |
| | Etiofencarbe | 45,72 ¹ | 100,2 | 111,3 | 97,03 | | | 102,8 | 7,26 | 3 |
| | Monolinurão | 73,12 ¹ | 85,52 | 100,7 | 94,53 | | | 93,59 | 8,17 | 3 |
| | Metobromurão | 89,24 | 78,68 ¹ | 109,69 | 112,1 | | | 103,7 | 12,1 | 3 |
| | Linurão | 71,78 ¹ | 79,90 | 93,99 | 86,16 | | | 86,68 | 8,14 | 3 |
| | Clorprofame | 31,45 ¹ | 69,53 | 79,82 | 70,44 | | | 73,26 | 7,78 | 3 |
| | EPTC | 17,43 | 27,61 | 36,37 ¹ | 22,11 | | | 22,38 | 22,8 | 3 |
| | Butilato | 20,04 | 21,51 | 44,14 ¹ | 26,29 | | | 22,62 | 14,5 | 3 |
| 70 °C | Carbofurão | 36,78 ¹ | 95,55 | 104,50 | 76,51 | | | 92,19 | 15,5 | 3 |
| | Carbaril | 53,10 ¹ | 92,25 | 80,01 | 72,45 | | | 81,57 | 12,3 | 3 |
| | Etiofencarbe | 93,72 | 126,3 ¹ | 110,2 | 104,4 | | | 102,8 | 8,15 | 3 |
| | Monolinurão | 142,2 ¹ | 98,15 | 101,9 | 99,37 | | | 99,81 | 1,92 | 3 |
| | Metobromurão | 74,23 | 81,12 | 85,51 | 26,44 ¹ | | | 80,29 | 7,08 | 3 |
| | Linurão | 83,48 | 71,64 | 74,14 | 101,7 ¹ | | | 76,42 | 8,17 | 3 |
| | Clorprofame | 210,4 ¹ | 107,79 | 138,2 | 139,30 | | | 128,4 | 13,9 | 3 |
| | EPTC | 65,82 ¹ | 20,18 | 36,29 | 38,41 | | | 31,63 | 31,5 | 3 |
| | Butilato | 45,31 | 29,81 | 48,52 | 68,98 ¹ | | | 41,21 | 24,3 | 3 |
| 80 °C | Carbofurão | 46,51 ¹ | 60,84 | 137,0 | 116,3 | | | 104,7 | 37,6 | 3 |
| | Carbaril | 47,04 | 50,71 | 47,16 | 52,57 | | | 49,37 | 2,28 | 4 |
| | Etiofencarbe | 49,04 | 43,33 | 49,16 | 56,24 | | | 49,44 | 5,28 | 4 |
| | Monolinurão | 39,65 | 61,44 ¹ | 41,15 | 44,60 | | | 41,80 | 6,08 | 3 |
| | Metobromurão | 35,68 | 39,99 ¹ | 31,78 | 33,65 | | | 33,70 | 5,79 | 3 |
| | Linurão | 53,09 | 54,04 | 46,90 | 49,69 | | | 50,93 | 6,43 | 4 |
| | Clorprofame | 99,04 ¹ | 57,67 | 36,42 | 44,74 | | | 46,28 | 23,1 | 3 |
| | EPTC | 49,82 | 48,54 | 2,62 ¹ | 28,37 | | | 42,24 | 28,5 | 3 |
| | Butilato | 45,72 | 46,85 | -3,20 ¹ | 31,09 | | | 41,22 | 21,3 | 3 |

n.d.-não detectado,

¹Ensaio desprezado no cálculo da média

Tab. XIII-3: Percentagem de recuperação (% Rec) obtida para cada ensaio realizado, com o solvente de extracção diclorometano-metanol (9:1, v/v) à temperatura de 60, 70 e 80 °C no tomate, para o nível de contaminação I.

| Composto | | Número de ensaios | | | | | | %Rec média | % CV | n |
|----------|--------------|---------------------|---------------------|--------------------|--------------------|----------------|----------------|---------------|---------|---|
| | | n ₁ | n ₂ | n ₃ | n ₄ | n ₅ | n ₆ | | | |
| 60 °C | Carbofurão | 17,95 | 25,57 | 31,36 | 18,95 | | | 23,46 | 26,7 | 3 |
| | Carbaril | 88,32 | 109,1 | 131,4 ¹ | 113,3 | | | 103,6 | 12,9 | 3 |
| | Etiofencarbe | 12,30 ¹ | 65,66 | 113,8 | 68,08 | | | 82,51 | 32,9 | 4 |
| | Monolinurão | 85,44 | 88,06 | 74,09 | 57,49 ¹ | | | 82,53 | 9,00 | 3 |
| | Metobromurão | 49,93 ¹ | 63,35 | 69,12 | 66,38 | | | 66,28 | 4,35 | 3 |
| | Linurão | 77,51 | 87,39 | 109,6 ¹ | 86,76 | | | 83,89 | 6,59 | 3 |
| | Clorprofame | 124,2 | 66,43 | 159,4 | 110,8 | | | 131,5 | 19,1 | 3 |
| | EPTC | n.d. | n.d. | n.d. | n.d. | | | n.d. | | 4 |
| | Butilato | n.d. | n.d. | n.d. | n.d. | | | n.d. | | 4 |
| 70 °C | Carbofurão | 72,31 ¹ | 100,1 | 129,9 | 109,2 | | | 113,1 | 13,5 | 3 |
| | Carbaril | 21,00 ¹ | 80,17 | 72,94 | 73,35 | | | 75,49 | 5,38 | 3 |
| | Etiofencarbe | n.d. | n.d. | n.d. | n.d. | | | n.d. | | 4 |
| | Monolinurão | 47,59 ¹ | 95,42 | 72,19 | 69,59 | | | 79,07 | 18,0 | 3 |
| | Metobromurão | 34,95 ¹ | 77,22 | 73,92 | 73,52 | | | 74,89 | 2,71 | 3 |
| | Linurão | 36,24 | 32,62 | 8,75 | 3,85 | | | 20,36 | 80,7 | 4 |
| | Clorprofame | 19,57 | 69,89 ¹ | 16,34 | 16,48 | | | 17,46 | 10,4 | 3 |
| | EPTC | 5,49 | 10,78 | 78,08 | 83,60 | | | 44,49 | 94,6 | 4 |
| | Butilato | 14,66 | 118,9 ¹ | 7,32 | 13,62 | | | 11,87 | 33,5 | 3 |
| 80 °C | Carbofurão | 28,51 ¹ | 74,60 | 113,4 | 113,8 | | | 100,6 | 22,4 | 3 |
| | Carbaril | 101,6 | 108,5 | 98,90 | 101,1 | | | 102,5 | 4,11 | 4 |
| | Etiofencarbe | -381,3 ¹ | -55,76 ¹ | 72,58 | 57,09 | | | 64,84 | 7,74 | 2 |
| | Monolinurão | 42,99 ¹ | 96,37 | 74,20 | 75,42 | | | 82,00 | 15,2 | 3 |
| | Metobromurão | 26,01 ¹ | 81,39 | 68,48 | 67,06 | | | 72,31 | 10,9 | 3 |
| | Linurão | n.d. | n.d. | n.d. | n.d. | | | n.d. | | 4 |
| | Clorprofame | n.d. | n.d. | n.d. | n.d. | | | n.d. | | 4 |
| | EPTC | n.d. | n.d. | n.d. | n.d. | | | n.d. | | 4 |
| | Butilato | n.d. | n.d. | n.d. | n.d. | | | n.d. | | 4 |

n.d.-não detectado

¹Ensaio desprezado no cálculo da média

Tab. XIII-4: Percentagem de recuperação (% Rec) obtida para cada ensaio realizado, com o solvente de extracção acetoneitrilo à temperatura de 60 °C no tomate, para o nível de contaminação II.

| Composto | | Número de ensaios | | | | | | %Rec média | % CV | n |
|----------|--------------|-------------------|----------------|--------------------|----------------|--------------------|----------------|------------|------|---|
| | | n ₁ | n ₂ | n ₃ | n ₄ | n ₅ | n ₆ | | | |
| 60 °C | Carbofurão | 70,27 | 70,39 | 72,39 | 60,75 | 74,82 | 64,41 | 68,84 | 7,63 | 6 |
| | Carbaril | 99,41 | 90,92 | 107,6 | 101,8 | 100,3 | 100,3 | 100,0 | 5,35 | 6 |
| | Etiofencarbe | 108,8 | 99,32 | 109,0 | 113,2 | 85,25 | 103,5 | 103,2 | 9,72 | 6 |
| | Monolinurão | 71,91 | 73,49 | 79,49 | 71,80 | 89,24 | 87,06 | 78,83 | 9,86 | 6 |
| | Metobromurão | 72,14 | 67,03 | 71,37 | 70,68 | 82,49 | 78,37 | 73,68 | 7,69 | 6 |
| | Linurão | 84,56 | 73,04 | 83,73 | 78,96 | 73,10 | 71,16 | 77,42 | 7,54 | 6 |
| | Clorprofame | 72,23 | 77,14 | 60,33 | 62,67 | 64,19 | 62,87 | 66,57 | 9,90 | 6 |
| | EPTC | 61,41 | 65,40 | 52,48 ¹ | 73,13 | 49,34 ¹ | 64,13 | 66,02 | 7,61 | 4 |
| | Butilato | 91,85 | 87,56 | 91,57 | 95,73 | 98,87 | 99,68 | 94,21 | 5,00 | 6 |

¹Ensaio desprezado no cálculo da média**Tab. XIII-5:** Percentagem de recuperação (% Rec) obtida para cada ensaio realizado, com o solvente de extracção acetoneitrilo à temperatura de 60 °C no tomate, para o nível de contaminação III.

| Composto | | Número de ensaios | | | | | | %Rec média | % CV | n |
|----------|--------------|-------------------|----------------|----------------|----------------|----------------|----------------|------------|------|---|
| | | n ₁ | n ₂ | n ₃ | n ₄ | n ₅ | n ₆ | | | |
| 60 °C | Carbofurão | 27,09 | 26,54 | 28,78 | 26,35 | 24,85 | 23,02 | 26,10 | 7,55 | 6 |
| | Carbaril | 96,46 | 112,0 | 110,3 | 117,3 | 96,84 | 106,1 | 106,5 | 7,93 | 6 |
| | Etiofencarbe | 81,32 | 74,08 | 84,84 | 82,60 | 82,56 | 85,80 | 81,87 | 5,07 | 6 |
| | Monolinurão | 88,63 | 95,55 | 96,78 | 104,4 | 84,29 | 103,5 | 95,54 | 8,36 | 6 |
| | Metobromurão | 60,25 | 68,75 | 67,00 | 61,37 | 59,11 | 67,22 | 63,95 | 6,51 | 6 |
| | Linurão | 76,45 | 85,55 | 87,26 | 91,66 | 73,97 | 83,04 | 82,99 | 8,07 | 6 |
| | Clorprofame | 68,63 | 58,33 | 64,35 | 57,48 | 63,86 | 68,74 | 63,56 | 7,63 | 6 |
| | EPTC | 26,08 | 17,57 | 17,14 | 37,93 | 19,93 | 38,42 | 26,18 | 37,5 | 6 |
| | Butilato | 55,48 | 47,72 | 52,87 | 63,88 | 47,20 | 60,57 | 54,62 | 12,4 | 6 |

Anexo XIV - Resultados obtidos em todos os ensaios realizados da percentagem de recuperação para cada solvente de extracção na gama de temperaturas estudada na matriz dos vegetais

Tab. XIV-1: Percentagem de recuperação (% Rec), coeficiente de variação (% CV) e número de ensaios efectuados (n) utilizando: o acetonitrilo, as misturas: hexano-acetona (1:1, v/v) e diclorometano-metanol (9:1, v/v) para extrair a 60 °C os pesticidas em estudo da batata com um nível de contaminação para carbofurão, etiofencarbe, linurão e clorprofame de 60,0 µg/kg, para o carbaril de 48,0 µg/kg e para os pesticidas EPTC e butilato de 159 µg/kg.

| Composto | | Número de ensaios | | | | % Rec Média | % CV | n |
|-------------------------------------|--------------|-------------------|----------------|----------------|----------------|----------------|---------|---|
| | | n ₁ | n ₂ | n ₃ | n ₄ | | | |
| Acetonitrilo | Carbofurão | n.d. | n.d. | n.d. | n.d. | n.d. | | 4 |
| | Carbaril | 86,69 | 81,88 | 93,03 | 91,73 | 88,33 | 6,90 | 4 |
| | Etiofencarbe | 15,11 | 19,42 | 21,30 | 28,74 | 21,14 | 23,3 | 4 |
| | Linurão | 76,00 | 93,54 | 87,84 | 91,90 | 87,32 | 3,36 | 4 |
| | Clorprofame | 74,71 | 67,24 | 63,99 | 65,70 | 67,91 | 2,39 | 4 |
| | EPTC | n.d. | n.d. | n.d. | n.d. | n.d. | | 4 |
| | Butilato | n.d. | n.d. | n.d. | n.d. | n.d. | | 4 |
| | | | | | | | | |
| Hexano-acetona (1:1, v/v) | Carbofurão | n.d. | n.d. | n.d. | n.d. | n.d. | | 4 |
| | Carbaril | 102,21 | 89,11 | 85,82 | 81,62 | 89,69 | 4,19 | 4 |
| | Etiofencarbe | n.d. | n.d. | n.d. | n.d. | n.d. | | 4 |
| | Linurão | 92,19 | 86,78 | 79,96 | 85,97 | 86,22 | 4,32 | 4 |
| | Clorprofame | 79,33 | 67,36 | 71,23 | 69,88 | 71,95 | 2,73 | 4 |
| | EPTC | n.d. | n.d. | n.d. | n.d. | n.d. | | 4 |
| | Butilato | n.d. | n.d. | n.d. | n.d. | n.d. | | 4 |
| | | | | | | | | |
| Diclorometano-metanol (9:1, v/v) | Carbofurão | n.d. | n.d. | n.d. | n.d. | n.d. | | 4 |
| | Carbaril | 71,06 | 66,65 | 62,24 | 63,74 | 64,21 | 3,49 | 4 |
| | Etiofencarbe | n.d. | n.d. | n.d. | n.d. | n.d. | | 4 |
| | Linurão | 59,42 | 55,62 | 64,77 | 54,98 | 58,46 | 9,37 | 4 |
| | Clorprofame | 60,18 | 55,77 | 53,45 | 53,54 | 55,73 | 5,66 | 4 |
| | EPTC | n.d. | n.d. | n.d. | n.d. | n.d. | | 4 |
| | Butilato | n.d. | n.d. | n.d. | n.d. | n.d. | | 4 |

n.d.-não detectado

Tab. XIV-2: Percentagem de recuperação (% Rec), coeficiente de variação (% CV) e número de ensaios efectuados (n) utilizando: o acetonitrilo, as misturas hexano-acetona (1:1, v/v) e diclorometano-metanol (9:1, v/v) para extrair a 60 °C os pesticidas em estudo do repolho com um nível de contaminação para os pesticidas carbofurão, etiofencarbe, linurão e clorprofame de 60,0 µg/kg, para o pesticida carbaril de 48,0 µg/kg e para os pesticidas EPTC e butilato de 159 µg/kg.

| Composto | | Número de ensaios | | | | | % Rec Média | % CV | n |
|-------------------------------------|--------------|-------------------|----------------|----------------|----------------|--|----------------|-------|---|
| | | n ₁ | n ₂ | n ₃ | n ₄ | | | | |
| Acetonitrilo | Carbofurão | n.d. | n.d. | n.d. | n.d. | | n.d. | | 4 |
| | Carbaril | 66,80 | 66,92 | 66,22 | 65,74 | | 66,42 | 0,89 | 4 |
| | Etiofencarbe | 19,40 | 17,32 | 35,55 | 29,11 | | 25,34 | 36,48 | 4 |
| | Linurão | 30,19 | 22,61 | 32,81 | 37,55 | | 30,79 | 24,80 | 4 |
| | Clorprofame | n.d. | n.d. | n.d. | n.d. | | n.d. | | 4 |
| | EPTC | n.d. | n.d. | n.d. | n.d. | | n.d. | | 4 |
| | Butilato | n.d. | n.d. | n.d. | n.d. | | n.d. | | 4 |
| | | | | | | | | | |
| Hexano-acetona (1:1, v/v) | Carbofurão | n.d. | n.d. | n.d. | n.d. | | n.d. | | 4 |
| | Carbaril | 68,87 | 67,95 | 70,33 | 66,73 | | 68,47 | 2,67 | 4 |
| | Etiofencarbe | 13,24 | 13,38 | 25,57 | 25,42 | | 19,40 | 36,04 | 4 |
| | Linurão | 27,20 | 24,26 | 28,06 | 27,90 | | 26,86 | 8,01 | 4 |
| | Clorprofame | n.d. | n.d. | n.d. | n.d. | | n.d. | | 4 |
| | EPTC | n.d. | n.d. | n.d. | n.d. | | n.d. | | 4 |
| | Butilato | n.d. | n.d. | n.d. | n.d. | | n.d. | | 4 |
| | | | | | | | | | |
| Diclorometano-metanol (9:1, v/v) | Carbofurão | 10,16 | 10,34 | 8,15 | 9,55 | | 9,55 | 11,59 | 4 |
| | Carbaril | 72,21 | 69,74 | 70,79 | 70,92 | | 70,92 | 0,91 | 4 |
| | Etiofencarbe | n.d. | n.d. | n.d. | n.d. | | n.d. | | 4 |
| | Linurão | 29,19 | 26,02 | 28,67 | 27,96 | | 27,96 | 4,90 | 4 |
| | Clorprofame | n.d. | n.d. | n.d. | n.d. | | n.d. | | 4 |
| | EPTC | n.d. | n.d. | n.d. | n.d. | | n.d. | | 4 |
| | Butilato | n.d. | n.d. | n.d. | n.d. | | n.d. | | 4 |

n.d.-não detectado